

**Laboratorio de Neurobiología del Sueño  
Departamento de Fisiología  
Facultad de Medicina  
Universidad de la República**

**Estudio de la coherencia de la banda  
gamma de frecuencias  
(35-45 Hz) del EEG durante la vigilia y el  
sueño**

**Tesis de Maestría  
Pro.In.Bio.**

**Santiago Castro Zaballa**

**Orientador:  
Prof. Dr. Pablo Torterolo  
Montevideo 2012**

## **RESUMEN**

Para generar los procesos cognitivos, distintas áreas corticales interactúan intensamente entre sí y con regiones subcorticales como el tálamo. Se ha postulado que las oscilaciones en la banda gamma de frecuencia (30 a 45 Hz) son un producto de estas interacciones y por lo tanto están involucradas en las funciones cognitivas en general.

Una aproximación para estudiar las características de estas interacciones es por medio de un análisis cuantitativo del EEG utilizando el algoritmo matemático llamado coherencia.

En el presente trabajo nos propusimos estudiar la coherencia del EEG para la banda gamma de frecuencias entre distintas regiones corticales durante la vigilia y el sueño.

Gatos adultos fueron implantados con macroelectrodos en varias regiones corticales para registros poligráficos en condiciones semirestringidas. De los datos obtenidos se analizó la coherencia del EEG entre pares de regiones corticales, durante la vigilia alerta (AW), la vigilia tranquila (QW), el sueño no-REM (NREM) y el sueño REM (REM).

Encontramos que durante la vigilia alerta hay un gran aumento de la coherencia entre áreas corticales en la banda gamma de frecuencias con respecto a los demás estados. A medida que el animal pasa a vigilia tranquila y luego al sueño NREM, la coherencia disminuye hasta valores moderados. La coherencia alcanza valores mínimos durante el sueño REM.

Concluimos que las interacciones funcionales entre áreas corticales son radicalmente diferentes en la vigilia y el sueño REM. La virtual ausencia de coherencia en la banda gamma de frecuencia durante el sueño REM podría sustentar el procesamiento cognitivo único que ocurre durante los ensueños, que son un fenómeno asociado principalmente con el sueño REM.

## **ABREVIATURAS**

A1: corteza auditiva primaria

AW: vigilia alerta

AWm: alerta generada con estímulo que consiste en la colocación de un espejo en frente del animal

AWml: alerta generada con estímulo que consiste en la colocación de una luz en movimiento en frente del animal

AWs: alerta generada con un estímulo sonoro

ECG: electrocardiograma

EEG: electroencefalograma

EOG: electrooculograma

HIP: electrograma hipocámpico

QW: vigilia tranquila

NREM: sueño no REM

Pf: corteza prefrontal

PGO: ondas ponto-genículo-occipitales

Pp: corteza parietal posterior

REM: sueño REM

S1: corteza somestésica primaria

SRAA: sistema reticular activador ascendente

V1: corteza visual primaria

## ÍNDICE

|  |           |
|--|-----------|
| RESUMEN .....  | 2         |
| ABREVIATURAS.....  | 2         |
| AGRADECIMIENTOS.....   | 4         |
| 1. INTRODUCCIÓN.....   | 5         |
| 1.1. Ciclo sueño-vigilia.....  | 5         |
| 1.2. Banda gamma y la integración en el procesamiento de la información..... | 8         |
| 1.3. Fenómenos cognitivos durante el sueño .....                             | 10        |
| 1.4. Modelo animal .....   | 11        |
| 1.5. Hipótesis de trabajo .....  | 13        |
| 2. OBJETIVOS.....  | 13        |
| 2.1. Objetivo general.....   | 13        |
| <b>2.2. Objetivos específicos.....</b>                                       | <b>13</b> |
| 3. MATERIAL Y METODOS. ....  | 13        |
| 3.1. Animales de experimentación.....  | 13        |

|      |   |    |
|------|---|----|
| 3.2. | Procedimientos quirúrgicos.....   | 14 |
| 3.3. | Sesiones experimentales.....  | 15 |
| 3.4. | Análisis de datos.....  | 17 |
| 4.   | RESULTADOS .....  | 20 |
| 4.1. | Registros crudos y filtrados durante AW y sueño REM.....                                    | 20 |
| 4.2. | Análisis de coherencia.....   | 25 |
| 5.   | DISCUSIÓN.....  | 32 |
| 5.1. | La coherencia en la banda gamma no se puede explicar por potenciales extracerebrales .....  | 32 |
| 5.2. | Análisis de coherencia en ventanas de 100 segundos .....                                    | 33 |
| 5.3. | Coherencia gamma durante la vigilia.....  | 34 |
| 5.4. | Aumento de la coherencia gamma durante AW: impacto en las funciones cognitivas              | 35 |
| 5.5. | Coherencia gamma durante el sueño.....  | 35 |
| 5.6. | Ausencia de coherencia gamma durante el sueño REM: impacto en las funciones cognitivas..... | 37 |
| 6.   | CONCLUSIONES .....  | 38 |
| 7.   | PERSPECTIVAS .....  | 39 |
| 8.   | REFERENCIAS.....  | 39 |
| 9.   | FIGURAS SUPLEMENTARIAS .....  | 44 |
| 10.  | PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS.....   | 47 |

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer al tribunal compuesto por Jaime M Monti, Leonel Gomez y José Luis Ardanaz por sus importantes aportes.

A mi tutor Pablo Torterolo por apoyarme en la puesta en práctica de esta idea que llevo al desarrollo de este nuevo trabajo, por su gran apoyo académico y por su constante impulso a la superación.

A Atilio Falconi por su apoyo académico y sus aportes.

A Patricia Lagos por sus aportes.

A Matias Cavelli, Luciana Benedetto y Patricia Vollono por su apoyo técnico.

A mi familia, mis padres y mis hermanos por su gran apoyo sin el cual todo esto no hubiera sido posible.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Ciclo sueño-vigilia

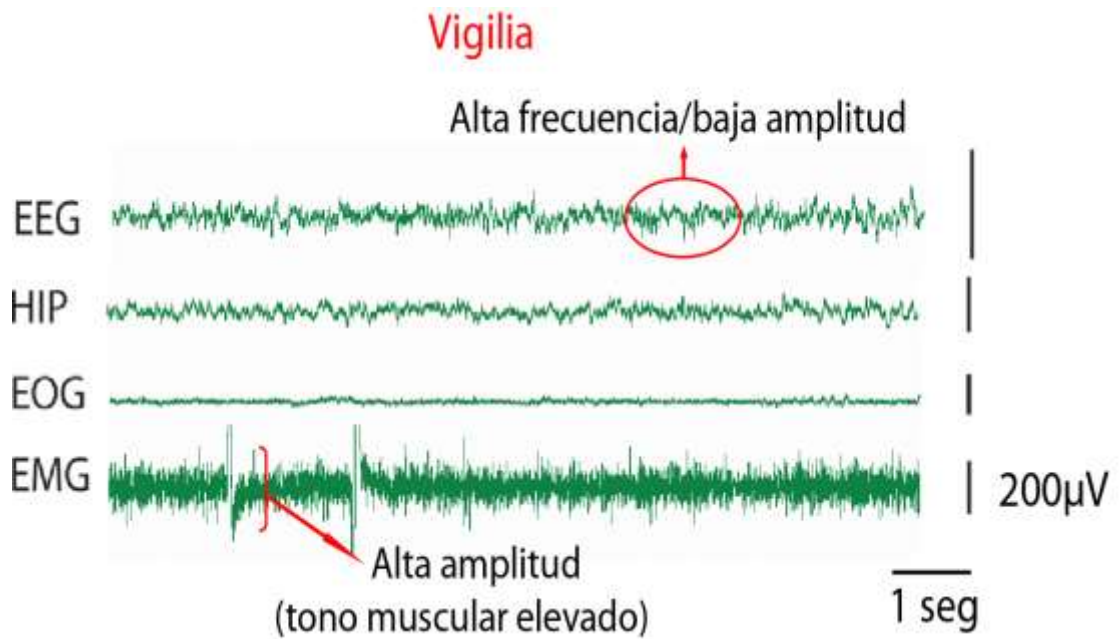
El ciclo sueño-vigilia es el ritmo biológico más evidente en las aves y los mamíferos. Dicho ciclo está compuesto por dos estados comportamentales: la vigilia (W. del inglés *wakefulness*) y el sueño, que poseen diferencias tanto fisiológicas como comportamentales (Carskadon. 2005). El ciclo sueño-vigilia presenta un ritmo circadiano. El marcapaso o reloj interno de este ritmo es el núcleo supraquiasmático, el cual está modulado por la luz a través de proyecciones provenientes de la retina (Mistlberger. 2005).

El sueño se puede definir como un estado reversible donde la respuesta y la interacción con el medio se encuentran disminuidas. Durante este se distinguen dos grandes estados: el sueño no-REM (NREM) o sueño lento, y el sueño REM (del inglés: “*rapid eye movements*”) (Carskadon. 2005).

Cada estado se caracteriza por un conjunto de correlatos fisiológicos tales como la actividad eléctrica de diversas áreas del encéfalo, el movimiento de los ojos y el tono muscular. Estos correlatos fisiológicos pueden ser registrados mediante un electroencefalograma (EEG), electrooculograma (EOG) y electromiograma (EMG). El registro en conjunto de estas señales bioeléctricas se denomina polisomnografía.

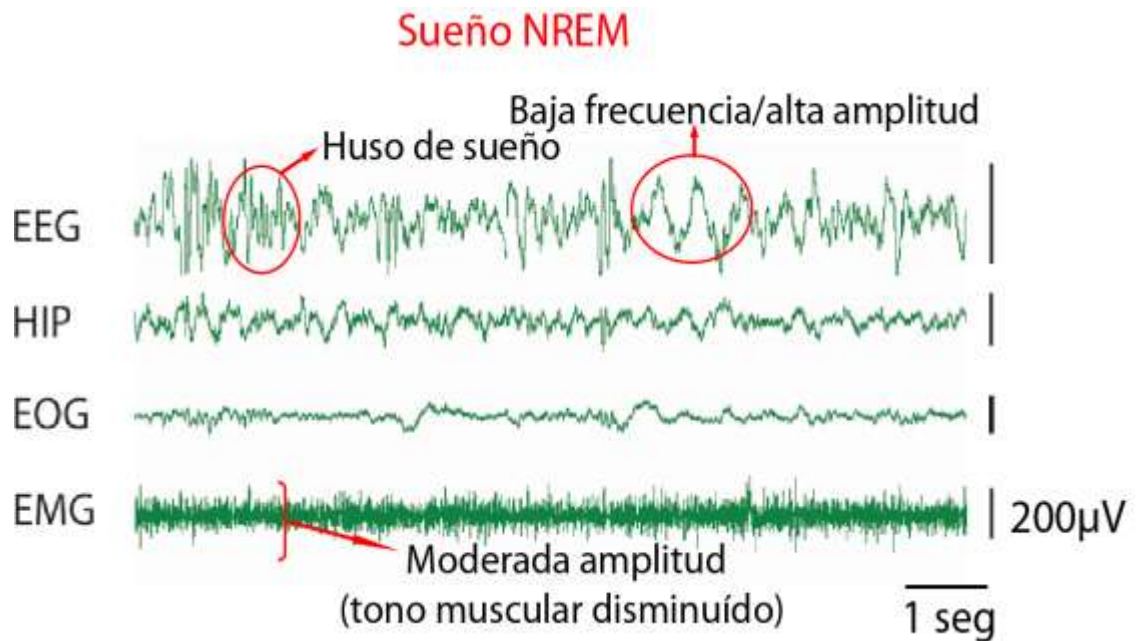
Durante la vigilia existe una interacción óptima con el ambiente que nos permite desarrollar diversos comportamientos necesarios para la supervivencia. En el ser humano, la vigilia se acompaña de conciencia del medio que nos rodea y de ciertos estímulos generados internamente.

Desde el punto de vista electroencefalográfico la vigilia se caracteriza por desincronización del neocortex, evidenciado por un aumento de la frecuencia y una disminución de la amplitud del trazado. La presencia de tono muscular es reflejada en la alta amplitud en el EMG. El electrograma del hipocampo (HIP) presenta un ritmo theta durante la vigilia. El EOG no presenta particularidades durante este estado (Tortero & Vanini 2010). En la Figura 1 se puede observar un registro poligráfico típico de la vigilia en el gato.



**Figura 1. Registro poligráfico durante la vigilia.** Se observan 4 registros bioeléctricos: el electroencefalograma de la corteza fronto-parietal (EEG), el registro eléctrico del hipocampo (HIP), el electrooculograma (EOG) y el electromiograma (EMG) obtenidos de un gato crónicamente implantado con electrodos para polisomografía. En el EEG cortical es posible observar una elevada frecuencia (15-50 Hz) y una baja amplitud (20-50  $\mu$ V) en relación al sueño NREM

En el sueño existe una marcada disminución de la interacción con el ambiente, un aumento del umbral de reacción a estímulos externos, una disminución de la actividad y tono muscular, así como la adopción de una postura adecuada para conservar el calor. En humanos luego del periodo de recién nacido a término, de la vigilia se ingresa al sueño NREM en el cual se reconocen clásicamente 4 fases en el ser humano (clásicamente numeradas del 1 al 4) relacionadas con la profundidad del estado. El sueño NREM presenta en forma característica un EEG con ondas de baja frecuencia (0.5 a 4 Hz) y alta amplitud, así como por la presencia de husos de sueño (11 a 16 Hz), ambos generados por la actividad sincronizada de neuronas talámicas y corticales. El sueño NREM se acompaña además de un aumento tónico de la actividad parasimpática que determina cambios característicos de la actividad visceral (Tortero & Vanini 2010). En el HIP se observan ondas lentas de alta amplitud. El EOG no presenta particularidades (Figura 2). En las etapas más profundas del NREM no existe o es mínima la actividad cognitiva (ensueños) (Dement. et al. 1957; Pace-Schott. et al. 2005).



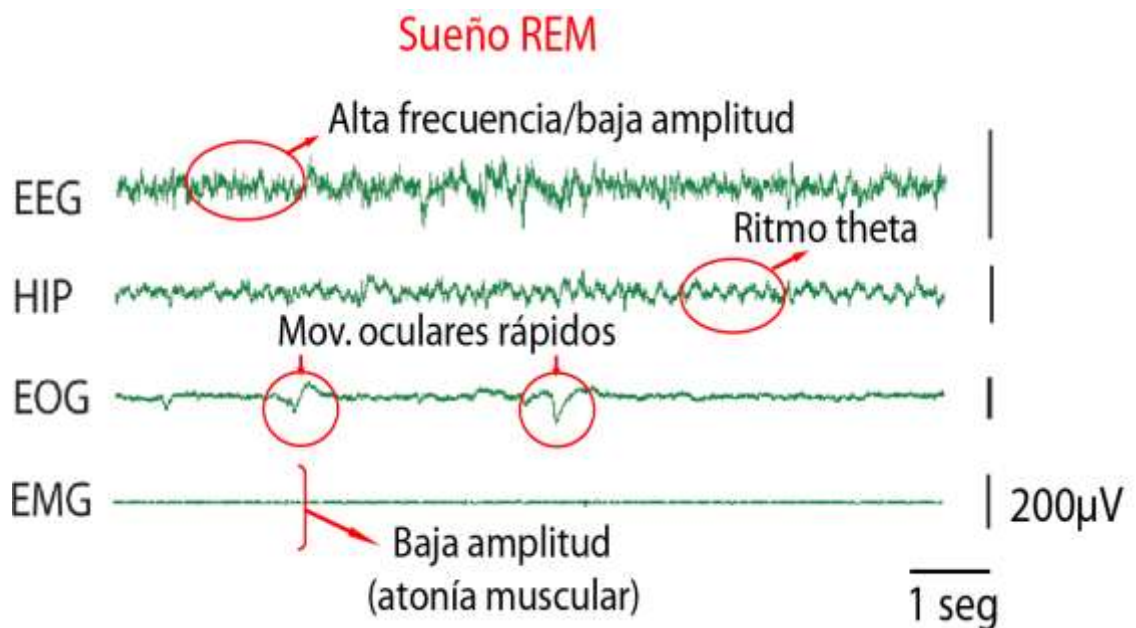
**Figura 2. Registro polisomnografía durante el sueño NREM.** Se observan 4 registros eléctricos, el electroencefalograma de la corteza fronto-parietal (EEG), el registro eléctrico del hipocampo, el electrooculograma (EOG) y el electromiograma (EMG). En el EEG cortical es posible observar los husos de sueño y las ondas lentas. Asimismo se puede observar el EMG con una amplitud disminuida correspondiente a un menor tono muscular que en vigilia.

En forma periódica y siempre precedida de NREM, se ingresa al estado de sueño REM. A pesar de que el sueño es profundo, el EEG es similar al de vigilia (por esa razón también se denomina sueño paradójico). Esta asociación inusual de parámetros había sido identificada y descrita en humanos por Kleitman y Aserinsky como sueño REM (Aserinsky & Kleitman. 1953). Sueño paradójico fue el término original utilizado por Jouvet (1959) a períodos de sueño comportamental durante los cuales los ojos se movían rápidamente y la corteza cerebral mostraba un patrón de actividad similar a la vigilia (Jouvet et al. 1959). Estos autores identificaron que es durante este estado que principalmente ocurren los ensueños. Este tipo de sueño también ha sido llamado sueño desincronizado, sueño activo y sueño con ensueños (“*dream sleep*”).

Las características principales y distintivas del sueño REM desde el punto de vista polisomnográfico son la desincronización cortical que supone desaparición de la alta amplitud y la baja frecuencia de las ondas EEG propias del sueño NREM y su remplazo por un ritmo rápido y de baja amplitud (Figura 3), (Ursin & Sterman. 1981). A su vez, se pueden observar los movimientos oculares rápidos registrados en el EOG y una baja amplitud en el EMG que refleja la atonía muscular (Figura 3).

En forma simultánea con el EEG, EMG, y EOG es posible realizar registros subcorticales en estudios de sueño con animales de experimentación, como registros del

HIP o del núcleo geniculado lateral del tálamo. Como se observa en la Figura 3, durante el sueño REM el electrograma del hipocampo expresa una actividad rítmica theta, con una frecuencia característica de 4-8 Hz similar a la encontrada durante la vigilia con actividad motora. Por otro lado, el núcleo geniculado lateral del gato presenta en forma distintiva ondas de gran amplitud que aparecen típicamente aisladas o en trenes (Ursin & Sterman. 1981). Estas ondas también pueden ser registradas en el tegmento pontino y en la corteza occipital, por lo que son llamadas ondas ponto-geniculo-occipitales (PGO).



**Figura 3. Registro polisomnografía durante el sueño REM.** Se observan 4 registros bioeléctricos, el electroencefalograma de la corteza fronto-parietal (EEG), el registro eléctrico del hipocampo (HIP), el electrooculograma (EOG) y el electromiograma (EMG). En el EMG presenta baja amplitud correspondiente a la atonía muscular; en el hipocampo se observa ritmo theta característico del sueño REM (y de la vigilia activa). En el EEG se observa la desincronización cortical y en el EOG los movimientos oculares rápidos que caracterizan al sueño REM.

## 1.2. Banda gamma y la integración en el procesamiento de la información

El problema de la integración ("the binding problem") es uno de los interrogantes más importantes que la neurociencia cognitiva tiene para resolver. A modo de ejemplo, distintas áreas corticales visuales procesan distintos aspectos de una imagen (color, forma, tamaño, movimiento por el campo visual, etc.). Sin embargo la percepción es unificada e integrada.

La actividad global de la corteza cerebral se puede analizar mediante el EEG. Se ha visto que la banda gamma de frecuencias del EEG, es crítica para la integración en el



procesamiento de la información y actividades cognitivas. Esta banda gamma se la ha considerado entre 30 a 80 Hz por algunos autores (Bressler et al; 1993), pero otros sugieren que la frecuencia más importante para la fenomenología cognitiva estaría alrededor de los 40 Hz (Llinas & Ribary. 1993).

La actividad gamma del EEG aumenta con la activación cortical. Por ejemplo, los estímulos táctiles la aumentan (y disminuye la actividad de las bandas de baja frecuencia) en las áreas sensitivas somáticas y área asociativa parietal posterior (Bauer et al. 2006). La potencia de esta banda también aumenta durante la actividad cognitiva, ya sea procesando información perceptual, o simplemente pensando o procesando imágenes internas (Bouyer et al. 1981; Desmedt et al. 1994; Lopes da Silva et al. 1970; Steriade et al 1970).

Se ha propuesto recientemente que la actividad en la banda gamma de frecuencias esta asociada a la inhibición peri somática de neuronas de proyección por interneuronas inhibitorias, y el ingrediente clave seria la inhibición mediada por el receptor GABA<sub>A</sub> (Buzsaki & Wang. 2012).

Además de aumentar la "potencia" de la actividad gamma durante las funciones cognitivas existen evidencias experimentales que sugieren que la actividad coherente entre diferentes áreas corticales para la banda gamma de frecuencia está en la base de la actividad cognitiva y funciones superiores en general. A modo de ejemplo. Cantero et al. (2004) propusieron que la sincronización gamma local está relacionada con la integración perceptual y que el acoplamiento gamma entre diferentes áreas corticales distantes está relacionado con la integración de los procesos cognitivos (Cantero et al. 2004). Bressler et al. (1993) observaron un aumento de la coherencia en la banda gamma durante el comportamiento sensoriomotor, mientras que un aumento de la coherencia a esta frecuencia en el lóbulo temporal izquierdo también se ha observado por magnetoencefalografía durante el reconocimiento del habla (Harle et al. 2004).

La coherencia entre dos ondas es una medida de su similitud en contenido de frecuencias. La coherencia se expresa en función de la frecuencia y varía de 0 para ondas totalmente incoherentes a 1 para ondas totalmente coherentes. Para ser completamente coherentes dos ondas debe tener un desfase constante a una frecuencia determinada y la relación entre las amplitudes a esa frecuencia debe mantenerse constante. Esto implica que dos áreas corticales que coordinan su actividad eléctrica, van a presentar un aumento de la coherencia entre sus actividades eléctricas aunque la

latencia debida a la distancia y/o a múltiples sinapsis determine un desfase temporal entre sus actividades eléctricas (Schoffelen et al. 2005)

Se ha propuesto entonces que el grado de coherencia entre el EEG de distintas cortezas registrados simultáneamente reflejaría la fuerza de las interconexiones funcionales (reentradas) que ocurren entre ellas (Edelman & Tononi. 2000; Bullock et al. 2003).

Recientemente Siegel et al. (2012) propusieron que las oscilaciones a frecuencias específicas correlacionadas en circuitos corticales distribuidos pueden funcionar como índices o huellas digitales de las interacciones que sostienen los procesos cognitivos (Siegel et al. 2012).

### **1.3. Fenómenos cognitivos durante el sueño**

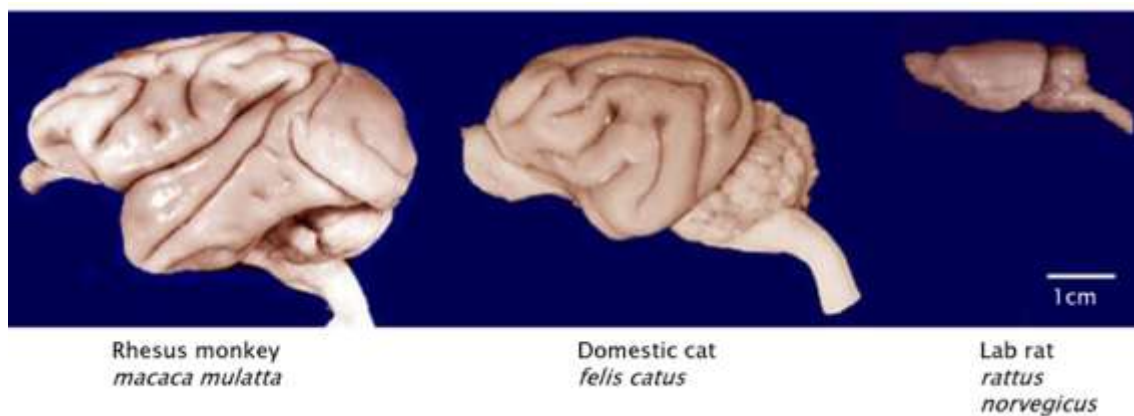
Las experiencias oníricas son un fenómeno asociado al sueño REM. La mayoría de individuos al ser despertados durante el sueño REM sostienen haber estado soñando (Dement. et al. 1957. Pace-Schott, et al. 2005). La probabilidad de obtener reportes de experiencias oníricas despertando a individuos durante el sueño NREM es marcadamente menor que en sueño REM. Los ensueños durante el sueño REM se caracterizan por su riqueza y claridad sensorial, discontinuidades e incongruencias en el tiempo, en el espacio y en los personajes, así como distorsión de la realidad y falta de conciencia de estar soñando. Por otra parte, las actividad mental durante el sueño NREM están más relacionadas con la vida real y por lo tanto, mas congruentes en el tiempo, espacio y personajes. Algunas de las características de las experiencias oníricas del sueño REM como la pérdida del control voluntario (el individuo no sabe lo que va a pasar a continuación. la atención es inestable y está dirigida en forma rígida), la violación de leyes físicas, incongruencias en el tiempo, espacio y personajes, recuerdan la disfunción de la corteza prefrontal dorsolateral (Corsi-Cabrera et al. 2003). Esto se relaciona con la evidencia de que la actividad neuronal de la corteza prefrontal medidas por tomografía de emisión de positrones disminuye durante el REM (Braun et al. 1997). A su vez, la actividad de las áreas asociativas multimodales (tanto frontales como parietales) disminuye mientras que aumenta la actividad de las áreas límbicas relacionadas con el control emocional (Braun et al. 1997).

¿Qué pasa con la coherencia de la banda de gamma de frecuencias durante el sueño? No existen hasta el momento estudios en modelos animales que lo hayan analizado. Sin embargo. Llinas y Ribary (1993) en un trabajo muy importante en esta

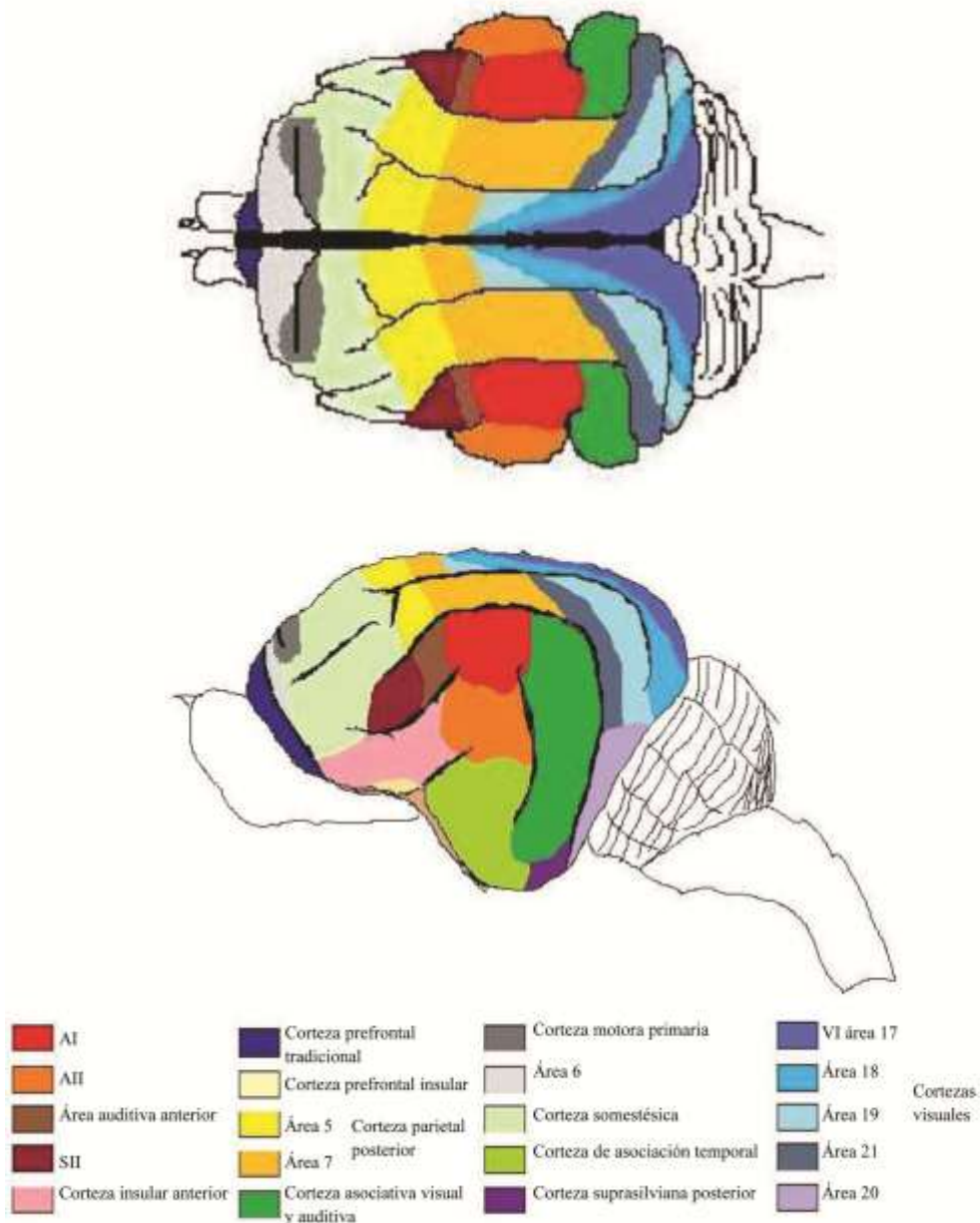
área de estudio, utilizando registros magnetoencefalográficos mostraron que durante el sueño REM en humanos, existe un importante y extendido aumento de la coherencia gamma (40 Hz) (Llinas & Ribary. 1993). En el presente trabajo, presentamos evidencias que responden este interrogante estudiando la coherencia entre diferentes áreas corticales para la banda gamma de frecuencias (30-45 Hz) del EEG durante la vigilia y el sueño naturales, utilizando el gato como modelo animal.

#### 1.4. Modelo animal

Para estudiar la coherencia en el EEG durante la vigilia y el sueño utilizamos gatos adultos, este modelo animal tiene ventajas comparativas tanto con estudios en seres humanos como con otro tipo de animales de experimentación. Además de las dificultades éticas que implica el trabajo experimental en seres humanos, los registros de superficie en humanos (EEG o MEG) no permiten una clara localización espacial de la señal y en caso del EEG, se dificulta el registro de frecuencias altas (ya que son parcialmente filtradas por el cráneo y cuero cabelludo), ni el acceso a áreas corticales y subcorticales profundas. En cambio, en el gato, el EEG se puede registrar mediante electrodos superficiales de corteza (electrocorticograma). Comparado con roedores, los gatos tienen más desarrolladas las áreas de asociación, facilitando el estudio de las funciones cognitivas (Figura 4). Además como se destaca en la Figura 5, la corteza cerebral de gato ha sido ampliamente mapeada.



**Figura 4. Cerebros de mono Rhesus, gato y rata.** Se puede observar que el encéfalo del gato presenta mas similitudes al del mono Rhesus ya sea por su tamaño como por su complejidad (el numero de cisuras y circunvoluciones en la corteza cerebral). Tomado de Univ. of Wisconsin. [www.brainmuseum.org](http://www.brainmuseum.org)



**Figura 5. Mapa anátomo-funcional de la corteza cerebral del gato.** Arriba se observa una vista superior del cerebro y en el centro una vista lateral con las diferentes áreas corticales marcadas según el código de colores que se encuentra debajo. Este mapa fue confeccionado de acuerdo a los trabajos de (Thompson et al., 1963; Markowitsch & Pritzel, 1977; Berman & Jones, 1982; Scannell et al., 1995). Los números de las áreas sería el correspondiente a las descritas por Brodmann en humanos.

Por otra parte, el gato es un animal empleado habitualmente para el estudio del sueño ya que posee etapas bien definidas de sueño y de duración suficiente como para realizar análisis prolongados de las distintas etapas. Es interesante destacar que lesiones en el tegmento pontino dorsal en gatos genera sueño REM sin atonía y libera comportamientos elaborados durante el mismo. Estos son comportamientos de alerta,

saltos, predación, caza, sugiriendo que los gatos tienen experiencias oníricas similares a las humanas durante el sueño REM (Sastre & Jouvet. 1979; Morrison. 1983).

### **1.5. Hipótesis de trabajo**

Dado que existen diferencias importantes en las funciones cognitivas entre la vigilia y el sueño, esperamos encontrar diferencias significativas entre la coherencia en la banda gamma (30-45 Hz) de frecuencias del EEG de distintas combinaciones de áreas corticales durante la vigilia y el sueño.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

- Estudiar las Interacciones funcionales entre diferentes áreas corticales en la banda gamma del EEG (30-45Hz) durante la vigilia y el sueño

### **2.2. Objetivos específicos.**

-Utilizando el gato como modelo animal estudiar durante la vigilia alerta (AW), vigilia tranquila (QW), sueño NREM y sueño REM, la coherencia de la banda de frecuencias gamma del EEG entre las siguientes áreas corticales:

- Cortezas sensoriales primarias (auditiva, visual y somestésica).
- Corteza de asociación prefrontal
- Corteza de asociación parietal posterior

## **3. MATERIAL Y METODOS.**

### **3.1. Animales de experimentación.**

Se utilizaron 4 gatos adultos, obtenidos de la Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación (URBE). Los animales permanecieron en jaulas individuales, con un ciclo luz-oscuridad (12-12 Hs) y temperatura controladas. Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la guía para el uso y cuidado de animales de laboratorio (8va edición, National Academy Press, Washington. DC 2010). A su vez, los estudios se realizaron de acuerdo a la Ley nacional de experimentación animal (Nº 18.611). Los protocolos experimentales fueron aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación animal (CHEA), expediente Nº 71140-1235-09. Se realizó el mayor esfuerzo para minimizar el número de animales empleados, y se tomaron medidas para evitarles dolor, incomodidad o estrés.

### **3.2. Procedimientos quirúrgicos.**

Los procedimientos fueron similares a los utilizados previamente por nuestro grupo (Tortero et al; 2000. 2003. 2006. 2009). Brevemente, los animales previamente a la anestesia, fueron tratados con Xilazina (2.2 mg/Kg. i.m.), atropina (0.05 mg/Kg. i/m) y antibióticos (Ceftriaxona. 50 mg/Kg i/m). La anestesia fue inducida con Ketamina (15 mg/Kg. i.m.) y mantenida con una mezcla gaseosa de isoflourano (1-3%) en oxígeno.

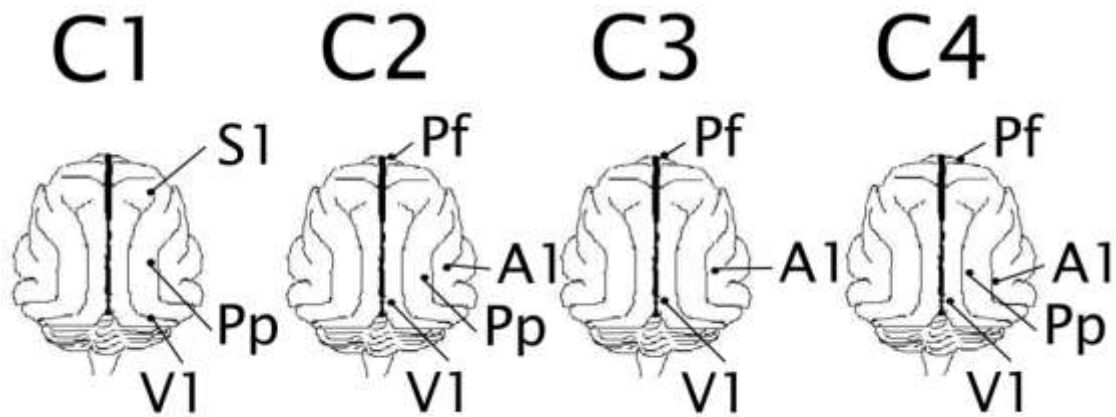
La cabeza del animal fue posicionada en un aparato estereotáctico y la calota fue expuesta. Se colocaron electrodos en la porción orbital del hueso frontal para el registro del EOG. Se realizaron perforaciones en el cráneo y se colocaron macroelectrodos de acero inoxidable (1.4 mm de diámetro) siguiendo las coordenadas estereotácticas (según atlas estereotáctico de Berman y Jones (1982) en las áreas corticales indicadas en la Figura 6.

Para reducir un posible efecto de conducción de volumen, la distancia entre los electrodos fue de al menos 6 mm (entre la corteza parietal posterior y la corteza auditiva primaria); la mayor fue de 22 mm (entre la corteza prefrontal y la corteza visual primaria).

A su vez se colocó un electrodo indiferente sobre el seno frontal y electrodos en los músculos de la nuca para registrar el EMG. Utilizando cemento acrílico se fijo en la calota un dispositivo, conectado a los electrodos implantados, así como también barras de sujeción para situar al animal en el aparato estereotáctico

Finalizada la cirugía, se administró un analgésico cada 12 hs durante 48 hs (Buprenex. 0.01mg/Kg i.m.). Los márgenes de incisión se mantuvieron limpios y se le aplicó antibiótico tópico diariamente.

Una vez recuperados de la cirugía, los animales fueron adaptados a las condiciones semirestringidas de registro por un período de no menos de dos semanas.



**Figura 6. Posición de los electrodos de registro.** Los electrodos de registro se colocaron en la corteza prefrontal, la corteza de asociación parietal posterior y las cortezas sensoriales primarias. Estos electrodos fueron referidos a un electrodo indiferente inactivo común, que fue localizado sobre el seno frontal. Los electrodos fueron localizados de acuerdo a los reportes de (Thompson et al., 1963; Markowitsch & Pritzel. 1977; Berman & Jones. 1982; Scannell et al., 1995), ver Figura 5. C1 a C4 son los nombres de los animales, A1 corteza auditiva primaria; Pf corteza prefrontal; Pp corteza parietal posterior; S1 corteza somato-sensorial primaria; V1 corteza visual primaria.

### 3.3. Sesiones experimentales

Se realizaron registros poligráficos en los que se registraron simultáneamente la actividad de 3 áreas corticales con electrodos monopolares. Se utilizó un electrodo indiferente común para las 3 áreas corticales registradas. El electrodo indiferente fue ubicado en el seno frontal izquierdo; esta ubicación es la mas adecuada debido a que la actividad registrada es escasa: un electrodo indiferente inactivo es critico para el análisis de coherencia (Bullock et al. 1995a; Bullock. 1997; Nunez et al. 1997; Cantero et al. 2000). También se monitorizó el EMG, (músculos de la nuca), registrado con electrodos bipolares colocados en forma aguda sobre la piel que cubre los músculos. También se registraron en experimentos controles el EMG de los músculos gastrocnemio y temporal así como el electrocardiograma (ECG) y el EOG, por medio de electrodos colocados en forma aguda a los lados de las órbitas oculares. Para obtener una serie de datos completa, cada gato fue registrado diariamente durante aproximadamente 30 días.

Las señales bioeléctricas fueron amplificadas (1000x), y filtradas (0.1-100 Hz), digitalizadas (512 Hz,  $2^{16}$  bits) y almacenadas en una PC utilizando el software Spike 2 (Cambridge Electronic Design). Se realizaron experimentos controles con diferentes combinaciones de filtros para descartar artefactos en el análisis de coherencia debido a la digitalización de los registros (filtro pasa bajo de 500 Hz, con y sin filtro “notch” a 50

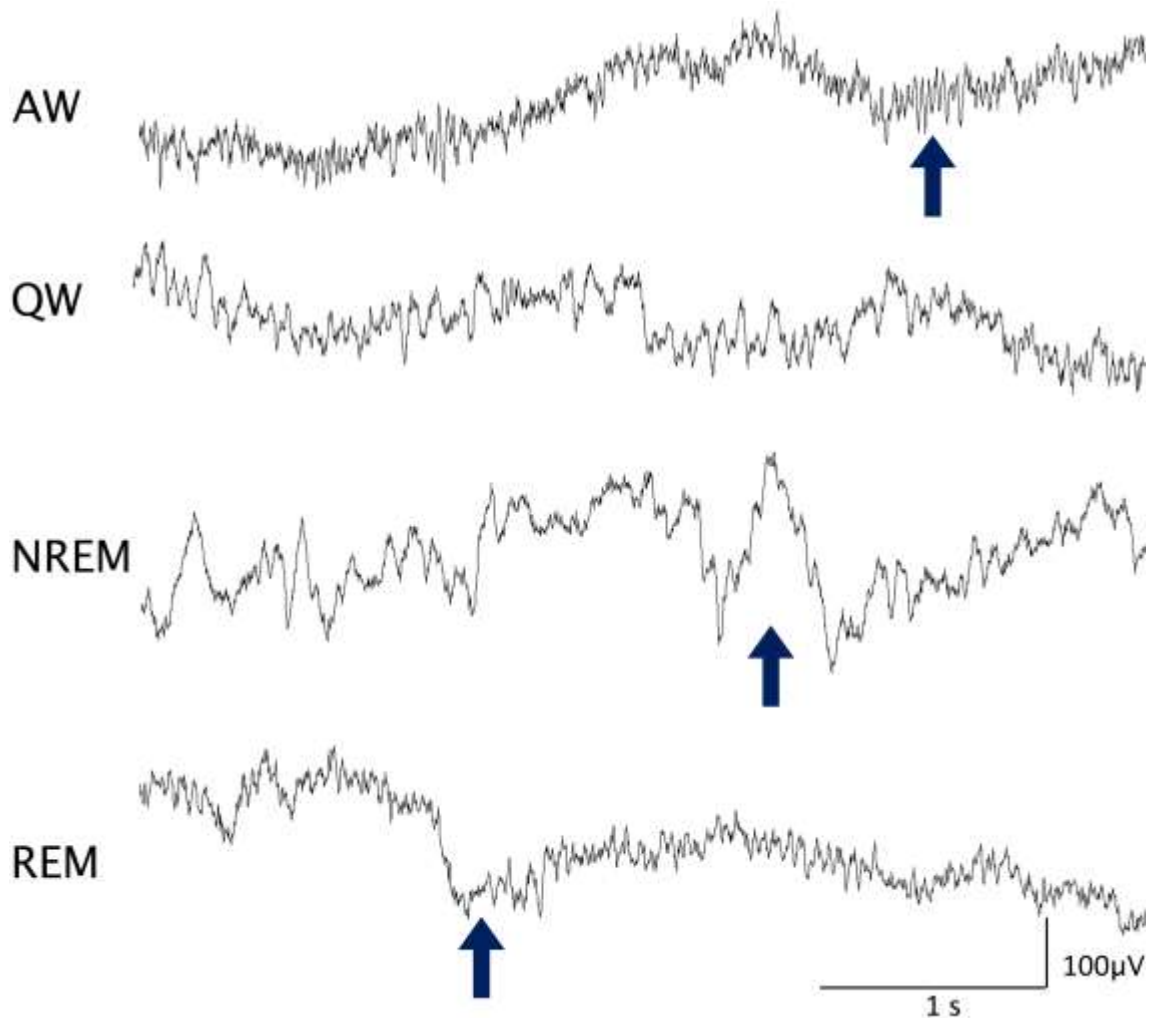
Hz) así como, también con frecuencia de muestreo de 1024 Hz. No se observaron diferencias entre los datos obtenidos con estos experimentos y los datos presentados en la sección Resultados.

Los datos fueron obtenidos en QW, sueño NREM, y REM espontáneos. La QW fue identificada por la presencia de EEG desincronizado, y con actividad en el EMG y escasa actividad en el EOG (Figuras 1 y 7). El sueño NREM fue identificado por la presencia de ondas lentas de alta amplitud (0.5-4 Hz) y la presencia de husos de sueño (9-14 Hz) en el EEG (Figuras 2 y 7). El sueño REM fue identificado por un EEG desincronizado con ondas PGO y atonia en el EMG. (Figuras 3 y 7).

La AW fue inducida por estímulos sonoros de 300 segundos de duración, aproximadamente 30 minutos después del inicio del registro. El estímulo sonoro consiste en clics (0.1 ms de duración) de 60 a 100 dB SPL en intensidad con una frecuencia de presentación variable (1 a 500 Hz. modificada de una forma al azar por el operador) para así evitar la habituación. (Tortero et al. 2003, 2011a). En experimentos seleccionados, la AW fue también inducida por la presentación de una luz en movimiento o colocando un espejo en frente del gato. Sin embargo como el estado de alerta supera la duración del estímulo, el estado de vigilia fue considerado QW cuando desciende la actividad en el EMG y en el EOG varios minutos luego de la estimulación, acompañado de EEG desincronizado.

Los registros fueron realizados en condiciones semirestringidas. La ventaja de esta condición es que las diferencias observadas en el EEG entre los estados comportamentales se deben a diferencias genuinas no influenciadas por posturas o movimientos, reduciendo también la posibilidad de artefactos.





**Figura 7. Registro encefalográfico (EEG) de la corteza prefrontal durante la vigilia y el sueño.** Se muestran 4 registros representativos de la vigilia alerta (AW), vigilia tranquila (QW), sueño NREM y sueño REM. Las flechas indican eventos característicos de cada estado; “ráfaga” gamma en AW, onda lenta en sueño NREM y onda PGO en sueño REM, que también se observan en la corteza prefrontal.

### ***3.4. Análisis de datos***

Los estados de sueño y vigilia fueron determinados en épocas de 10 segundos de duración.

Para analizar coherencia entre pares de canales de EEG se examinaron 12 periodos de 100 segundos libres de artefactos para cada estado comportamental (1200 segundos por estado comportamental). Los datos fueron obtenidos en 4 sesiones de registro; de cada sesión de registro se obtuvieron 3 periodos de 100 segundos libres de artefactos para cada estado comportamental.

En cada periodo de 100 segundos fue analizada la coherencia (Magnitude Squared Coherence) utilizando el siguiente algoritmo matemático:

$$\text{coh}(f) = \frac{|\sum \text{csd}_{ab}(f)|^2}{\sum \text{psd}_a(f) \sum \text{psd}_b(f)}$$

psd es el espectro potencias, a y b las ondas registradas simultáneamente. csd es la densidad espectral cruzada; es decir, el análisis de Fourier de la función de covarianza cruzada; este provee una medida de como la actividad común entre dos procesos está distribuida en el espectro de frecuencias. Este algoritmo matemático fue descrito por Bullock & McClune. (1989) y validado por varios autores (Bouyer et al. 1981; Bullock & McClune. 1989; Bullock et al. 1995b; Achermann & Borbely. 1998a; b; Cantero et al. 2004).

Para obtener los valores de coherencia utilizamos el *script* de Spike 2 COHER 1S (Cambridge Electronic Design). Este algoritmo divide el periodo de tiempo (ventana de 100 segundos analizado en 100 bloques de tiempo (para una frecuencia de muestreo de 512 Hz). con un tamaño de bin de 1024 muestras y una resolución de frecuencias de 0.5 Hz.

En experimentos preliminares, establecimos que el valor de coherencia entre un registro cortical y el EMG (del músculo de la nuca, masetero o temporal). EOG o ECG fue aproximadamente de 0.1 o menor (Figura suplementaria 1). Por lo tanto valores menores o iguales a 0.1 indican ausencia de coherencia entre las cortezas analizadas.

En este trabajo, nos concentramos en estudiar la coherencia del EEG en la banda gamma de frecuencias (30-45 Hz), que fue descrito originalmente por Jasper & Andrews. (1938). Esta estrecha banda corresponde al ritmo cognitivo de 40 Hz introducido por Das & Gastaut. (1955). Elegimos esta banda dentro del espectro gamma porque en estudios preliminares observamos que cuando el animal es alertado por diferentes estímulos, se aprecia un pico notable en la coherencia en esta banda de frecuencias (ver Figura 11). También observamos oscilaciones genuinas, que se observan con la función de autocorrelación, en esta banda de frecuencias (Figuras 9 y 10).

Aplicamos la transformación  $z'$  de Fisher a los valores de coherencia para normalizar nuestros datos y analizarlos por medio de test estadísticos paramétricos.

Se analizaron los perfiles de coherencia  $z'$  para épocas de 100 segundos para cada par de registros corticales así como el promedio de las 12 épocas (Figuras 13, 14 y 15). Los valores de coherencia  $z'$  fueron promediados para cada estado, para cada gato

independientemente, y fue expresado como media  $\pm$  error estándar. La significancia de las diferencias entre los diferentes estados comportamentales se evaluó por medio del test ANOVA y el *post hoc* de Tamhane. El criterio utilizado para descartar la hipótesis nula fue  $p < 0.05$ .

Registros seleccionados fueron filtrados (pasa bandas 35 - 40 Hz) utilizando filtros digitales de tipo ("*finite impulse response*") del Spike 2.

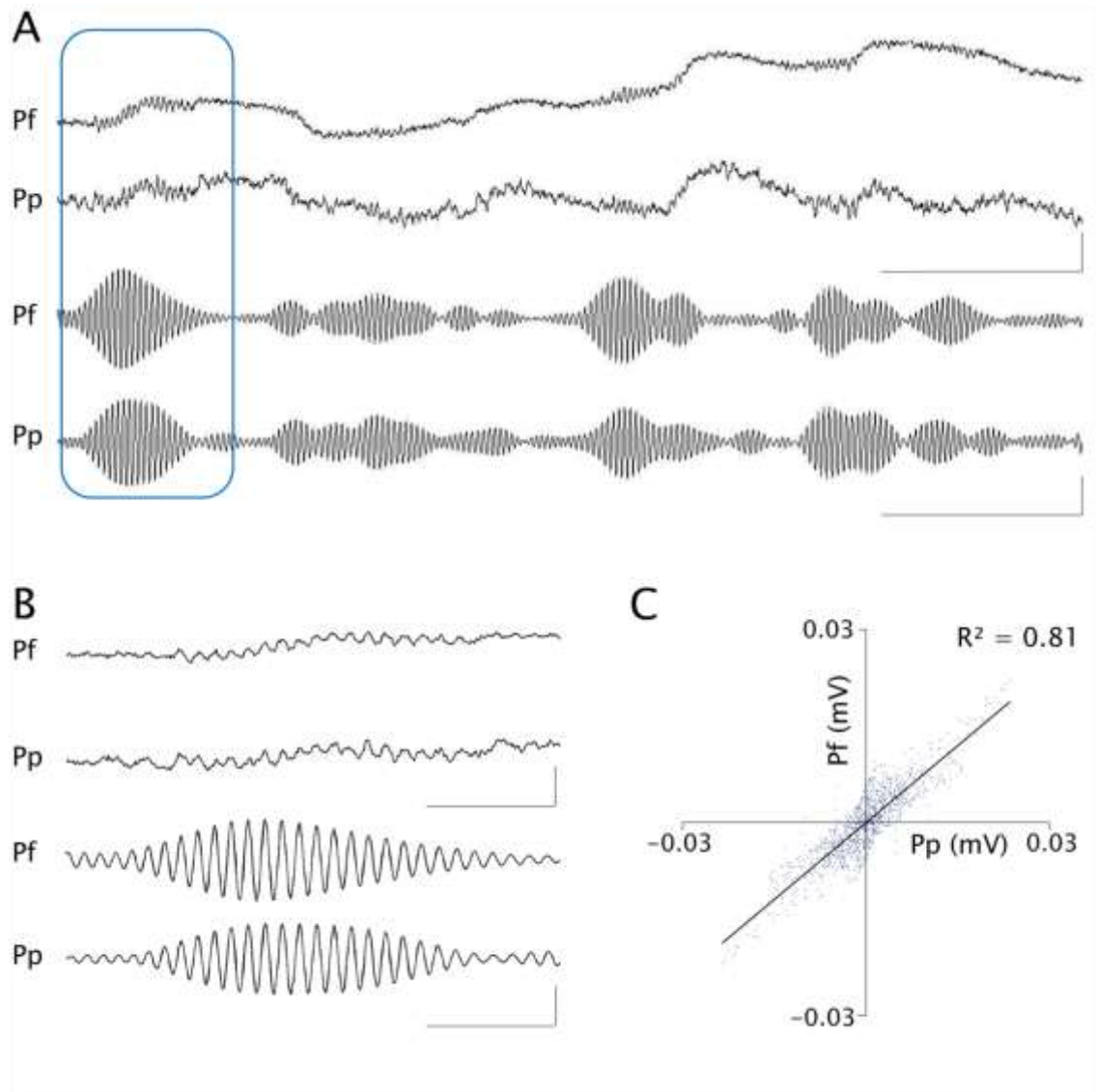
La amplitud de los pares de registros simultáneos filtrados fue analizada también por medio de la correlación de Pearson. La estructura de las ondas y la correlación entre ellas fueron analizadas mediante las funciones de autocorrelación y correlación cruzada, respectivamente.

## **4. RESULTADOS**

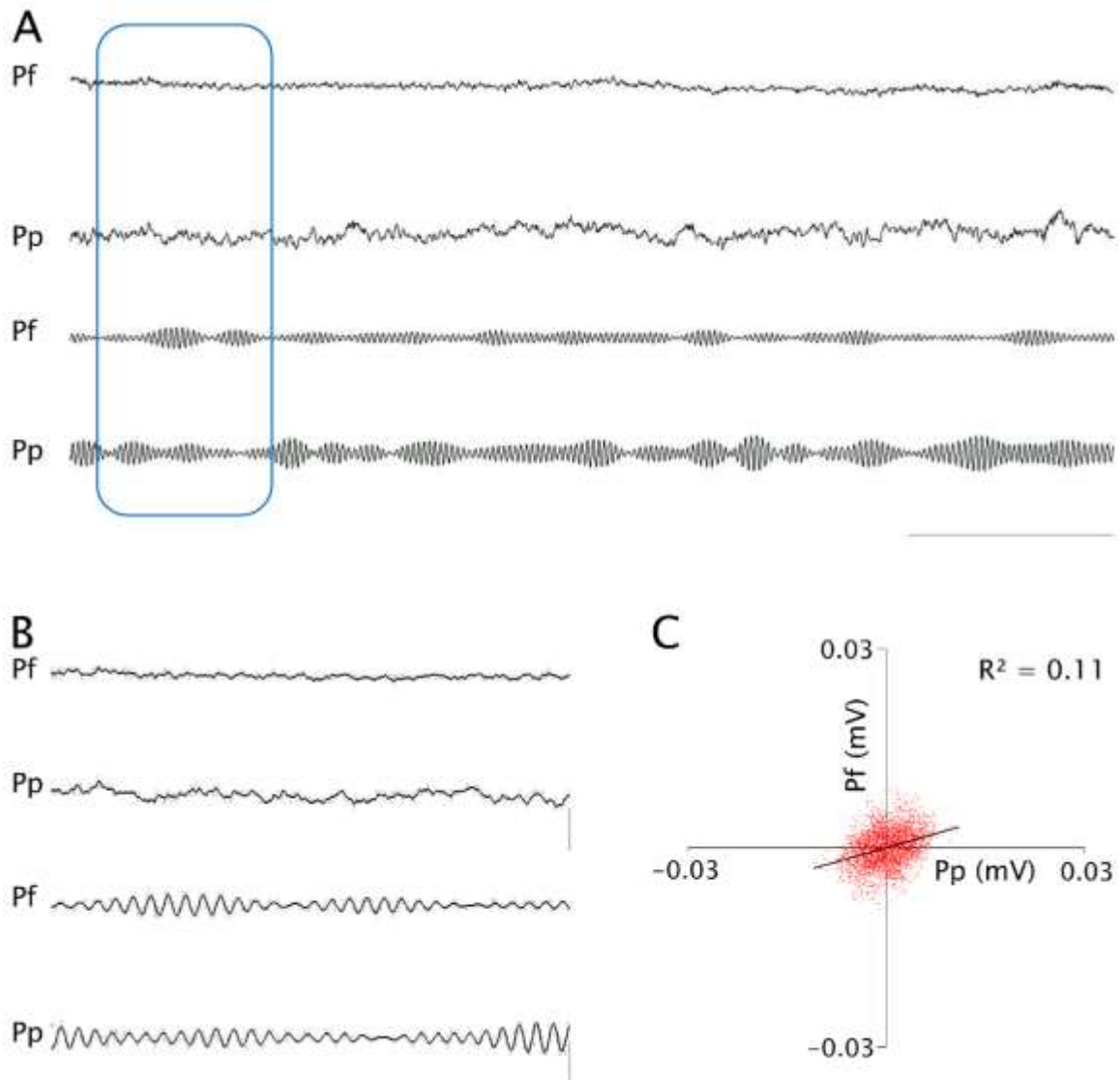
### **4.1. Registros crudos y filtrados durante AW y sueño REM**

El EEG fluctúa entre un patrón desincronizado durante la vigilia y el sueño REM (Figuras 1 y 3) y un patrón sincronizado durante el sueño NREM (Figura 2). Aunque la actividad del EEG es similar durante la vigilia y el sueño REM, existen diferencias entre estos. Las Figuras 8 y 9 muestran registros EEG representativos (corteza prefrontal y parietal posterior). Durante AW se pueden observar ráfagas de oscilaciones de 35-40 Hz visibles inclusive en los registros crudos (Figura 8); por el contrario, estos eventos son muy difíciles de encontrar durante el sueño REM (Figura 9). Luego de filtrar digitalmente los registros para incluir solamente la banda gamma, éstas oscilaciones se desenmascaran (Figuras 8 y 9). Las “ráfagas” de oscilaciones gamma tienen forma de huso con una amplitud y duración de aproximadamente 25  $\mu$ V y 200-500 ms. respectivamente. Durante AW estas oscilaciones son claramente observables en la función de autocorrelación que se acompaña de valores altos de potencia gamma (Figura 10). En contraste, durante el sueño REM la amplitud y la duración de estos eventos se redujeron drásticamente (Figuras 9 y 10).

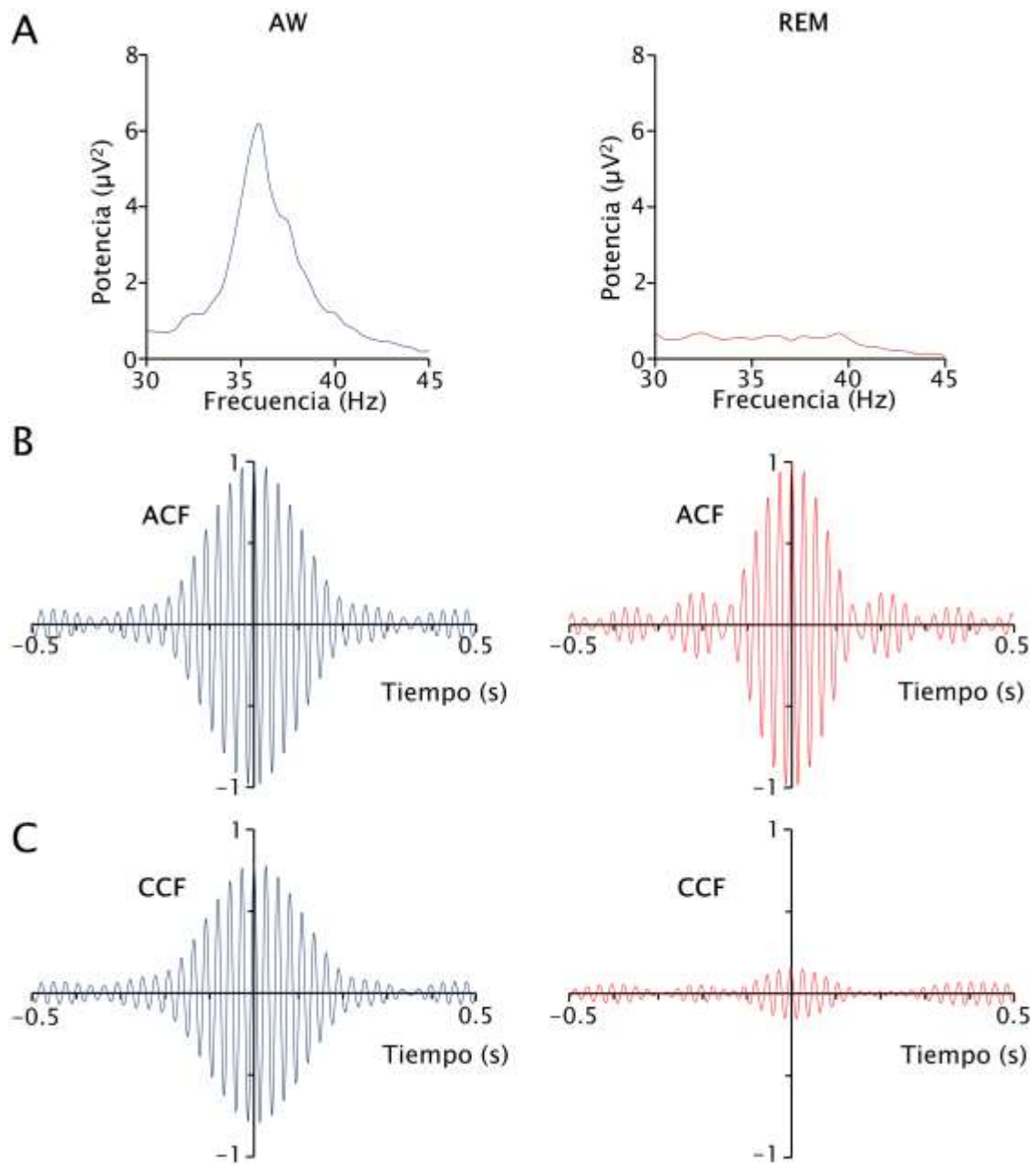
Durante AW existe un fuerte acoplamiento entre señales del EEG registradas en diferentes áreas corticales; esto no se observa durante el sueño REM (Figuras 8 y 9). Este alto nivel de acoplamiento, se observa mejor en registros filtrados. Este acoplamiento también se evidencia si se correlaciona la amplitud de las señales entre pares de registros EEG simultáneos (Figura 8c) y en la función de correlación cruzada (Figura 10c). Mientras que la correlación entre las señales EEG fue alta en AW, durante el sueño REM fue prácticamente nula (Figuras 8, 9 y 10).



**Figura 8. Oscilaciones gamma durante la vigilia alerta.** A. Registros corticales simultáneos, crudos y filtrados (35- 40 Hz), de las cortezas prefrontal (Pf) y parietal posterior (Pp) durante la vigilia alerta. Las oscilaciones gamma, que se pueden observar claramente en el registro crudo, son resaltadas al filtrar el registro. Barras de calibración: 1 segundo y 200  $\mu$ V para los registros crudos y 20  $\mu$ V para los registros filtrados. B. Las oscilaciones gamma encuadradas en A se muestran extendidas en el tiempo. Barras de calibración: 0.2 segundos. calibración voltaje igual que en A. C. Regresión y  $R^2$  entre la amplitud de Pf y Pp analizados en registros filtrados durante 6 segundos de vigilia alerta. Ecuación de la regresión lineal:  $Y = 0.8x + 0.00002$ .

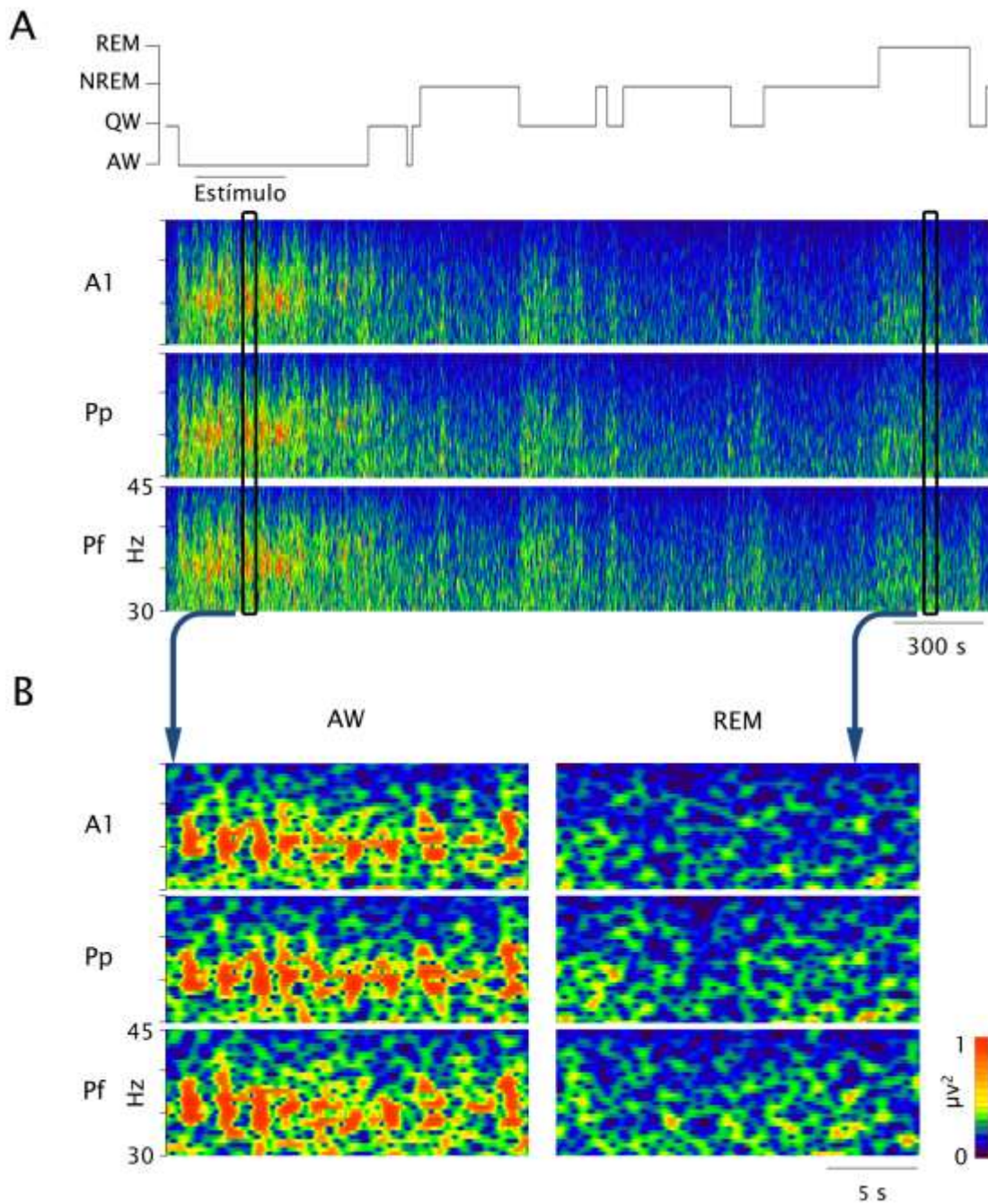


**Figura 9. Oscilaciones gamma durante el sueño REM.** A. Registros corticales simultáneos, crudos y filtrados (35- 40 Hz), de las cortezas prefrontal (Pf) y parietal posterior (Pp) durante el sueño REM. La amplitud y la duración de las oscilaciones gamma decrecieron en comparación con la vigilia alerta. Barras de calibración: 1 segundo y 200  $\mu\text{V}$  para los registros crudos y 20  $\mu\text{V}$  para los registros filtrados. B. Las oscilaciones gamma enmarcadas en A se muestran con un mayor tiempo de calibración. Barras de calibración: 0.2 segundos, calibración voltaje igual que en A. C. Regresión y  $R^2$  entre la amplitud de Pf y Pp analizados en registros filtrados durante 6 segundos de sueño REM. Ecuación de la regresión lineal:  $Y = 0.28x + 0.000002$ .



**Figura 10. Oscilaciones gamma durante la vigilia alerta (AW) y sueño REM.** A. Potencia de la banda gamma durante la vigilia alerta (izquierda) y el sueño REM (derecha), del EEG registrado en la corteza prefrontal (100 segundos). B. Función de autocorrelación (ACF) de 300 segundos de registros filtrados (35-40 Hz) de la corteza prefrontal durante AW (izquierda) y sueño REM (derecha). C. Función de correlación cruzada (CCF) de registros corticales simultáneos (300 s) de las cortezas prefrontal y parietal posterior durante vigilia alerta (izquierda) y sueño REM (derecha).

Una forma grafica de representar el incremento de potencia gamma así como el acoplamiento entre diferentes cortezas durante AW se muestra en el espectrograma de la Figura 11. Comparado con AW, durante el sueño REM la potencia gamma esta reducida y el acoplamiento no esta presente. Sin embargo, nótese que la potencia de la banda gamma durante el sueño REM es similar a la de QW y mayor a la del sueño NREM.



**Figura 11. Potencia de la banda gamma durante la vigilia alerta (AW) y el sueño REM.** A. Hipnograma y espectrograma de potencia gamma procesada de registros simultáneos EEG de cortezas auditiva primaria (A1), parietal posterior (Pp) y prefrontal (Pf). Durante la vigilia alerta, los valores de potencia gamma son mayores y están mas acoplados a lo largo de las



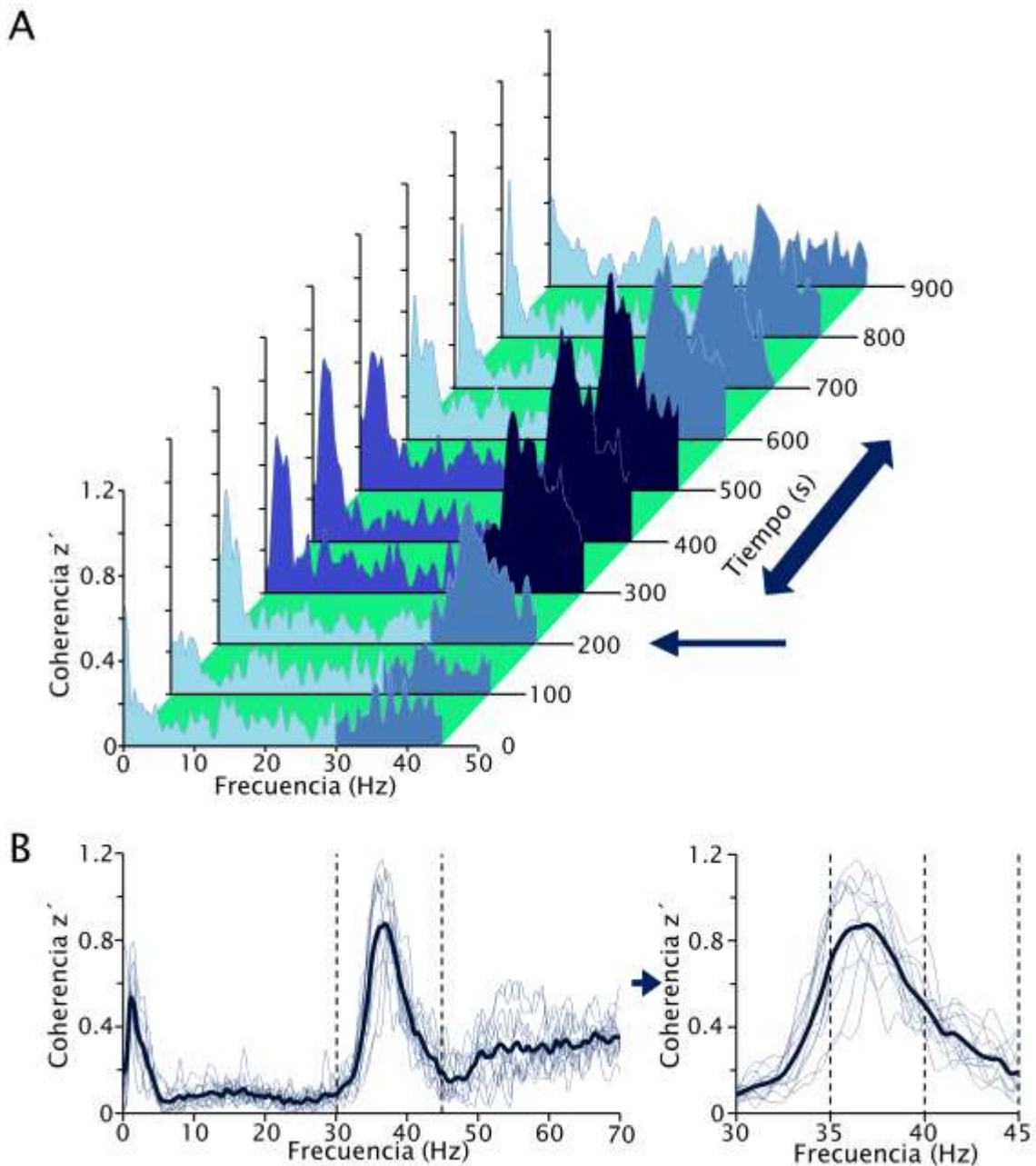
cortezas registradas que durante otros estados. La barra debajo del hipnograma indica el momento de la estimulación sonora. B. Ventana de 20 segundos de los espectrogramas de vigilia alerta y sueño REM. La dinámica de la potencia gamma durante la vigilia alerta fue muy similar en las 3 cortezas registradas simultáneamente, observando componentes espectrales de las ráfagas en la banda gamma; este hecho no se observa durante el sueño REM.

## **4.2. Análisis de coherencia**

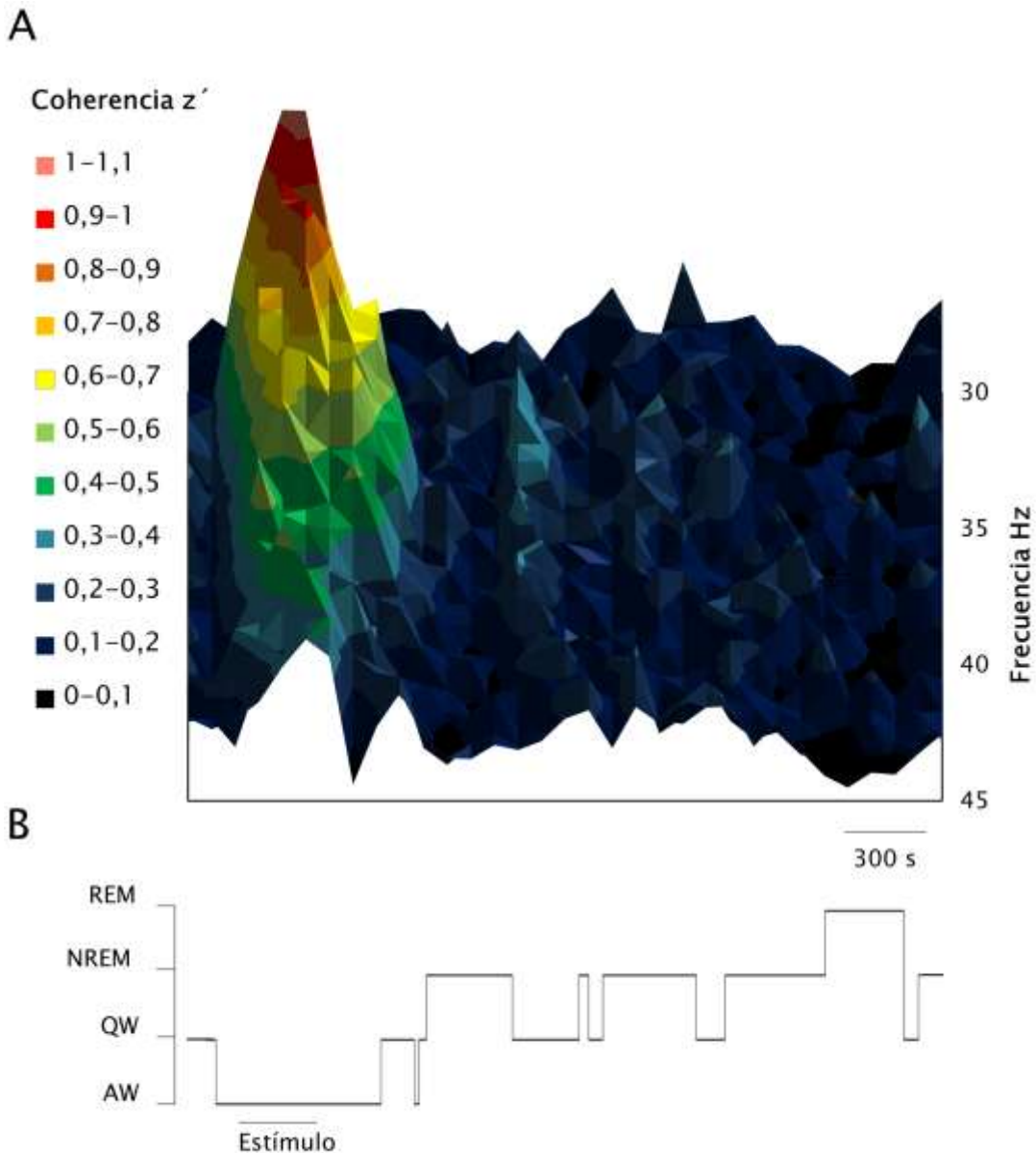
En los registros filtrados vimos que las oscilaciones gamma estaban acopladas durante AW y que ese acoplamiento se pierde durante el sueño REM. Para medir este nivel de acoplamiento de una forma más precisa, aplicamos el algoritmo de coherencia a los diferentes pares de señales EEG registrados simultáneamente durante la vigilia y el sueño.

En estudios preliminares analizamos la coherencia del EEG desde 0.5 a 70 Hz Durante el alerta se aprecia un gran incremento en la coherencia en la banda de frecuencias entre 30 y 45 Hz. con un vértice muy estrecho en la banda de frecuencias entre 35 y 40 Hz (Figura 12). Por esta razón nos centramos en el análisis de esta banda de frecuencias.

El incremento de la coherencia gamma que aparece cuando el animal es alertado con un estímulo, disminuye levemente luego de finalizar el estímulo hasta llegar al nivel de QW (Figuras 12 y 13). Si se observa la evolución dinámica de la coherencia a lo largo de la vigilia y el sueño, se puede observar que la coherencia gamma aumenta mucho durante AW en especial durante el estímulo, decrece considerablemente durante QW, disminuye un poco mas durante el sueño NREM y prácticamente desaparece durante el sueño REM (Figura 13). Nótese que en la Figura 13 se analizó la coherencia de los mismos registros simultáneos que en la Figura 11 se analizó potencia.

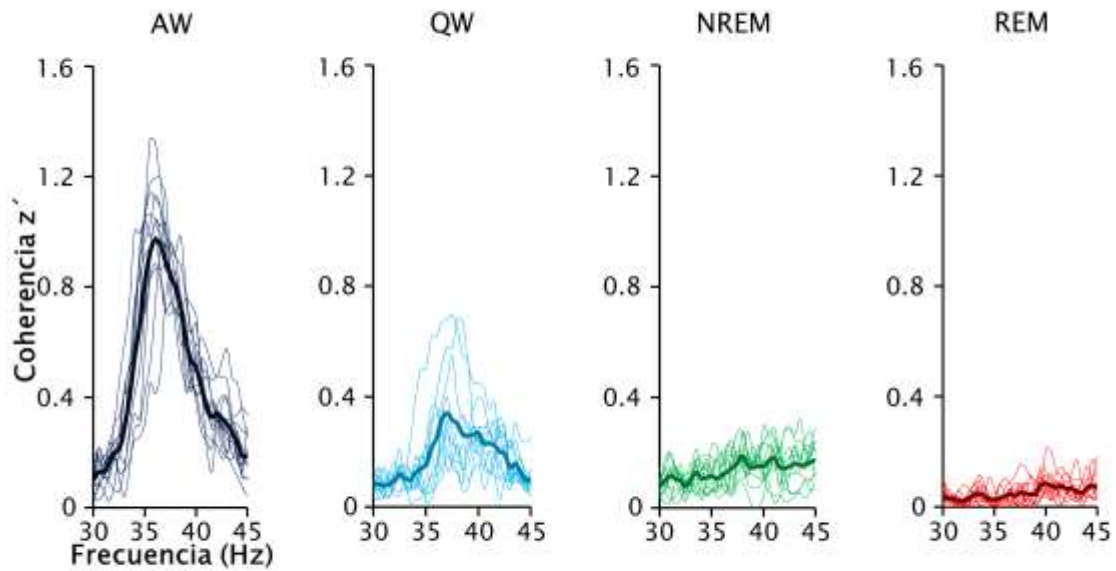


**Figura 12. Perfil de coherencia del EEG durante la vigilia.** A. Espectro de coherencia  $z'$  (0 – 45 Hz) entre registros de EEG simultáneos de las cortezas prefrontal y parietal posterior (1000 segundos en épocas de 100 segundo). La flecha delgada indica el momento en el que el experimentador entró a la sala de registros y la doble flecha gruesa indica el tiempo durante el cual fue aplicado el estímulo sonoro. Cuando el animal es alertado por un estímulo novedoso, aparece un claro pico de coherencia gamma (30-45 Hz). B. 12 perfiles de coherencia (líneas delgadas), y su promedio (línea gruesa), de un par de cortezas representativo (corteza prefrontal y parietal posterior) durante la vigilia alerta. Estos perfiles fueron construidos a partir de períodos de 100 segundos, durante la estimulación sonora, con una resolución de 0.5 Hz. La coherencia de la banda gamma (30 - 45 Hz) está resaltada a la derecha.



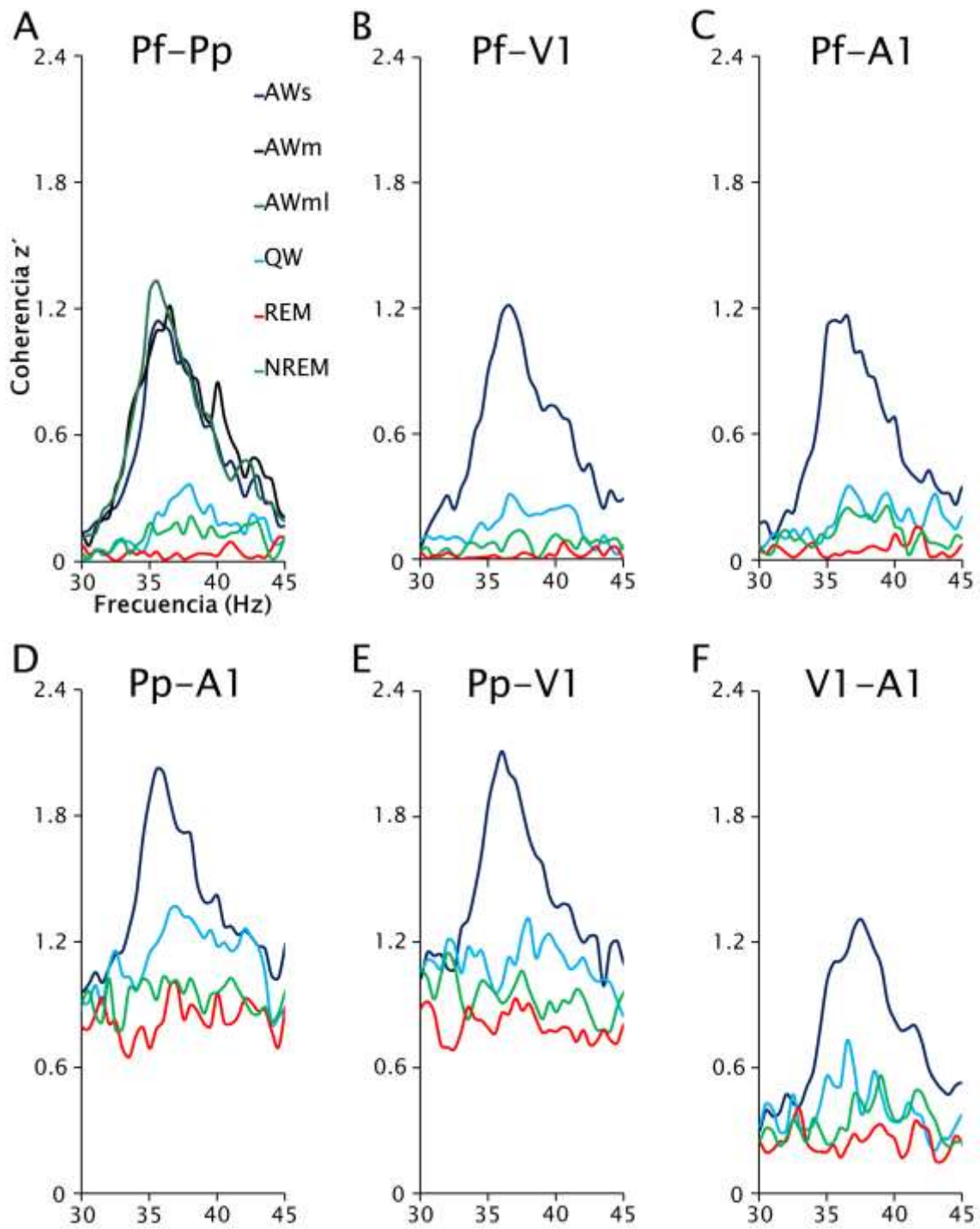
**Figura 13. Evolución dinámica de la coherencia del EEG (30–45 Hz) a lo largo de la vigilia y el sueño.** A. Espectrograma 3D de coherencia  $z'$  registros simultáneos de las cortezas prefrontal y parietal posterior (3300 segundos. resolución 100 segundos). El eje horizontal indica el tiempo, el eje de profundidad indica frecuencia y el vertical indica coherencia  $z'$  el cual esta acompañado con un código de colores referido a la izquierda. Cuando el animal es alertado por un estímulo novedoso, aparece un claro pico de coherencia, el cual decrece considerablemente durante QW, puede disminuir un poco más durante el sueño NREM y prácticamente desaparece durante el sueño REM. B. Hipnograma del registro analizado en A. Una barra debajo del hipnograma indica el momento de la estimulación sonora.

La Figura 14 muestra perfiles de coherencia  $z'$  de un par representativo de cortezas (corteza prefrontal y parietal posterior), de 12 periodos de 100 segundos y su promedio para cada estado. Se puede observar claramente que todos los perfiles así como el promedio, fue mayor durante AW, con un pico entre 35 y 40 Hz. La coherencia  $z'$  disminuyó durante QW y el sueño NREM, y está ausente durante el sueño REM.



**Figura 14. Perfil de coherencia gamma (35-40 Hz) del EEG durante la vigilia y el sueño.** A. 12 perfiles de coherencia  $z'$  (líneas delgadas), de un par de cortezas representativo (corteza prefrontal y parietal posterior) así como sus promedios (líneas gruesas) se muestran en vigilia alerta y tranquila, sueño NREM y sueño REM. Estos perfiles fueron construidos a partir de periodos de 100 segundos, con una resolución de 0.5 Hz. La coherencia gamma es máxima durante la vigilia alerta y mínima durante el sueño REM.

En la Figura 15 se muestran ejemplos de perfiles de coherencia  $z'$  promediados de diferentes combinaciones de registros EEG. Para todas las combinaciones mostradas, la coherencia  $z'$  fue muy alta durante AW y drásticamente menor durante el sueño REM. Nótese en la Figura 15 que los resultados de tres diferentes formas de estimulación para inducir AW (sonido, luz móvil y la exposición a un espejo) fueron muy similares. Durante AW la coherencia  $z'$  alcanza valores de 2.1 que corresponden a coherencias de 0.97.



**Figura 15. Perfil de coherencia  $z'$  para la banda gamma de frecuencias del EEG de cortezas prefrontal y perceptuales durante la vigilia y el sueño.** A. Las graficas de la parte superior (A-C) muestran la coherencia  $z'$  entre la corteza prefrontal y cortezas perceptuales. En la parte inferior (D-F) muestran la coherencia  $z'$  entre cortezas perceptuales. En A, tres tipos de estímulos producen vigilia alerta: sonido (AWs), espejo (AWm) y luz móvil (AWml). En B a F, el alerta fue producido solamente con estímulos sonoros. Para todas las combinaciones de registros, la coherencia  $z'$  para la banda gamma fue mayor durante AW que durante el sueño

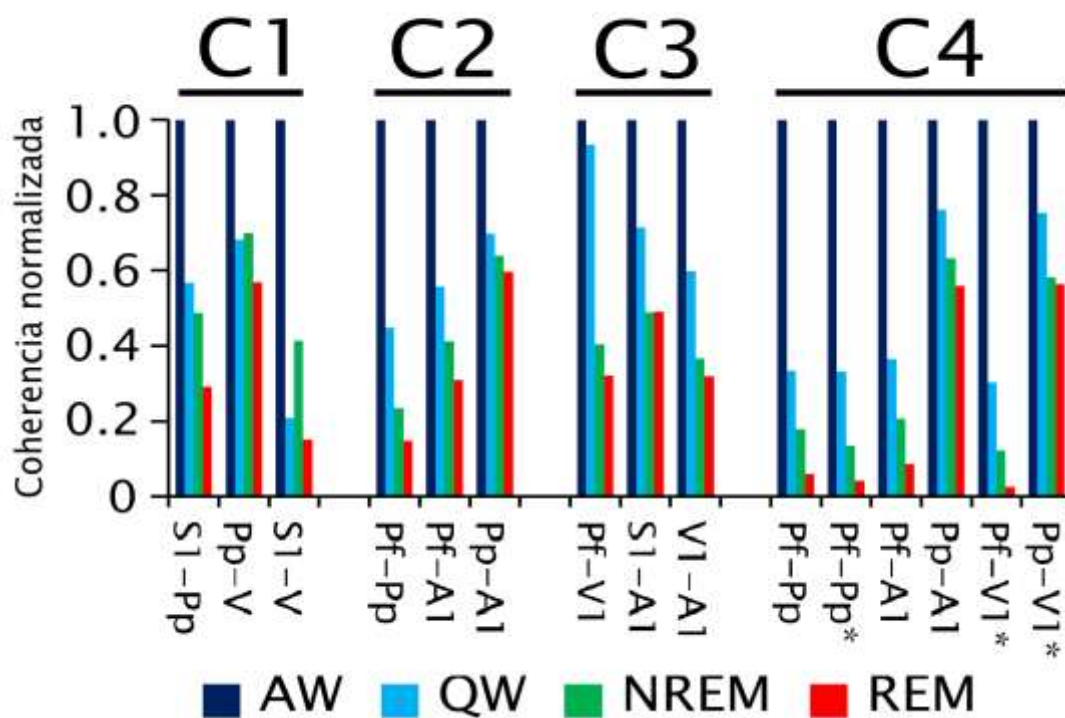
REM. QW, vigilia tranquila; NREM, sueño no REM; REM, sueño REM; A1 corteza auditiva primaria; Pf, corteza prefrontal; Pp, corteza parietal posterior; V1, corteza visual primaria.

El promedio de la coherencia  $z'$  en la banda de frecuencias de 35-40 Hz para todos los estados y para todas las combinaciones de registros corticales se muestran en la Tabla 1. En estos 16 análisis independientes, los resultados fueron consistentes. Durante AW, hubo un incremento significativo en la coherencia  $z'$  en todas las combinaciones con respecto a todos los demás estados mientras que en el sueño REM hubo una disminución significativa del mismo parámetro. Durante QW y sueño NREM los valores de coherencia  $z'$  fueron intermedios. La coherencia  $z'$  normalizada para los valores de AW resalta las diferencias entre vigilia y sueño REM (Figura 16). Dependiendo del par de cortezas analizado, la coherencia  $z'$  durante el sueño REM varió entre el 2.6 % y el 60 % de los valores de AW.

**Tabla 1. Valores de coherencia  $z'$  para todas las combinaciones de cortezas**

| Animales  | Derivadas     | AW          | QW          | NREM        | REM         | Significancia estadística                           | F   |
|-----------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|-----|
| <b>C1</b> | <b>S1-Pp</b>  | 1.09 ± 0.05 | 0.62 ± 0.06 | 0.53 ± 0.04 | 0.32 ± 0.01 | ++AW vs. all; +REM vs. all; +NREM vs. AW y REM.     | 54  |
|           | <b>Pp-V1</b>  | 1.31 ± 0.06 | 0.89 ± 0.06 | 0.92 ± 0.06 | 0.75 ± 0.06 | ++AW vs. all; +REM vs. all; +NREM vs. AW y REM.     | 46  |
|           | <b>S1-V1</b>  | 0.70 ± 0.05 | 0.15 ± 0.01 | 0.29 ± 0.04 | 0.11 ± 0.01 | ++AW vs. all; +REM vs. AW y NREM; +NREM vs. all.    | 54  |
| <b>C2</b> | <b>Pf-Pp</b>  | 0.67 ± 0.02 | 0.30 ± 0.04 | 0.16 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | ++AW vs. all; +REM vs. all; +NREM vs. all.          | 114 |
|           | <b>Pf-A1</b>  | 0.87 ± 0.05 | 0.49 ± 0.03 | 0.36 ± 0.01 | 0.27 ± 0.01 | ++AW vs. all; +REM vs. all; +NREM vs. AW y REM.     | 86  |
|           | <b>Pp-A1</b>  | 1.27 ± 0.04 | 0.89 ± 0.05 | 0.81 ± 0.01 | 0.76 ± 0.01 | ++AW vs. all; +REM vs. all; +NREM vs. AW y REM.     | 29  |
| <b>C3</b> | <b>Pf-V1</b>  | 0.14 ± 0.01 | 0.13 ± 0.02 | 0.06 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | +REM vs. AW y QW; +NREM vs. AW y QW.                | 18  |
|           | <b>S1-A1</b>  | 0.99 ± 0.02 | 0.70 ± 0.03 | 0.48 ± 0.01 | 0.48 ± 0.01 | ++AW vs. all; ++REM vs. AW y QW; +NREM vs. AW y QW. | 137 |
|           | <b>V1-A1</b>  | 0.76 ± 0.02 | 0.46 ± 0.03 | 0.28 ± 0.01 | 0.24 ± 0.03 | ++AW vs. all; +REM vs. AW y QW; ++NREM vs. AW y QW. | 102 |
| <b>C4</b> | <b>Pf-Pp</b>  | 0.80 ± 0.05 | 0.27 ± 0.04 | 0.14 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 | ++AW vs. all; ++REM vs. all; ++NREM vs. AW y REM.   | 118 |
|           | <b>Pf-Pp*</b> | 0.94 ± 0.03 | 0.31 ± 0.02 | 0.13 ± 0.01 | 0.04 ± 0.00 | ++AW vs. all; ++REM vs. all; ++NREM vs. all         | 121 |
|           | <b>Pf-A1</b>  | 0.79 ± 0.04 | 0.29 ± 0.04 | 0.16 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | ++AW vs. all; ++REM vs. all; ++NREM vs. AW y REM.   | 173 |
|           | <b>Pp-A1</b>  | 1.57 ± 0.03 | 1.20 ± 0.03 | 0.99 ± 0.02 | 0.88 ± 0.01 | ++AW vs. all; ++REM vs. all; ++NREM vs. all.        | 515 |
|           | <b>Pf-V1*</b> | 0.86 ± 0.02 | 0.26 ± 0.02 | 0.10 ± 0.00 | 0.02 ± 0.00 | ++AW vs. all; ++REM vs. all; ++NREM vs. all.        | 616 |
|           | <b>Pp-V1*</b> | 1.70 ± 0.02 | 1.28 ± 0.03 | 0.99 ± 0.02 | 0.96 ± 0.02 | ++AW vs. all; ++REM vs. all; ++NREM vs. AW y QW.    | 235 |

\*En estas combinaciones de cortezas AW fue inducida por estimulación visual. Los valores representan media ± error-estándar. + p < 0.05 ++ p < 0.0001. ANOVA con test poshoc de Tamhane  
Todas las derivadas tienen los mismos grados de libertad (3 entre-grupos. 44 intra-grupos y 47 totales)



**Figura 16.** Coherencia  $z'$  para la banda gamma (35-40 Hz) para todas las combinaciones de cortezas analizadas. Los datos de la Tabla 1 fueron normalizados con respecto a los valores obtenidos durante AW. C1 a C4 son los nombres de los animales. A1, corteza auditiva primaria; Pf, corteza prefrontal; Pp, corteza parietal posterior; S1, corteza somatosensorial primaria; V1, corteza visual primaria. En las derivadas indicadas con \* la AW fue inducida con estímulos visuales. AW, vigilia alerta QW, vigilia tranquila; NREM, sueño no REM; REM, sueño REM.

## 5. DISCUSIÓN

En el presente estudio, demostramos en el gato que la coherencia en la banda gamma de frecuencias (30-45 Hz) entre EEG corticales intrahemisféricos es mayor durante la AW que durante la QW. Esta disminuyó a un valor menor durante el sueño NREM, y alcanzó su nadir durante el sueño REM. Por lo tanto, durante el sueño REM, el acoplamiento de la actividad neuronal entre diferentes áreas corticales a 35-40 Hz (gamma) disminuye al mínimo.

### 5.1. La coherencia en la banda gamma no se puede explicar por potenciales extracerebrales

Podemos descartar que los potenciales extracerebrales generados por músculos, corazón o movimientos oculares sean la causa de la gran coherencia observada durante AW basándonos en dos principales argumentos. Primero, la coherencia gamma entre el



EEG y la actividad de diferentes EMGs, ECG y EOG registrados ya sea por electrodos bipolares o monopolares, fue despreciable (parte de estos resultados se observan en la Figura suplementaria 1). Segundo, observamos que existe una latencia variable entre la gran mayoría de los picos de las ondas gamma entre los diferentes registros corticales registrados simultáneamente. Esta latencia es proporcional a la distancia entre los electrodos de registro corticales (Figura suplementaria 2). Si estos potenciales fueran producidos por una fuente extracerebral, no se esperaría encontrar latencia entre los diferentes registros corticales. Este hecho también descarta la conducción de volumen como un componente importante de la coherencia en la banda gamma.

Datos obtenidos en EEG registrados en humanos indican que los movimientos sacádicos oculares son una fuente de oscilaciones gamma en derivaciones frontales (Yuval-Greenberg et al., 2008). Además de la ausencia de coherencia entre el EEG y el EOG, la ausencia de coherencia gamma durante el sueño REM, cuando movimientos sacádicos son muy frecuentes, indica que estos movimientos no tienen un impacto en la generación de la coherencia gamma en el gato.

## **5.2. Análisis de coherencia en ventanas de 100 segundos**

Utilizamos ventanas de 100 segundos para discernir características generales del patrón de coherencias. Sin embargo, la escala temporal de los eventos funcionalmente significativos y fluctuaciones de la actividad cerebral es mucho más corta. En relación a las funciones cognitivas, Libet et al. (1991) demostraron que para una experiencia sensorial consciente es necesaria una activación neuronal apropiada durante 500 ms (Libet et al., 1991). De modo que desde un punto de vista electrofisiológico, en una ventana de 100 segundos estamos promediando los resultados de diferentes eventos ocurridos durante la vigilia (ej. potenciales evocados sensitivos o motores), durante el sueño NREM (ej. husos de sueño y ondas lentas) o el sueño REM (ej. ondas PGO y desincronización tónica del EEG). Sin embargo, demostramos un incremento del acoplamiento gamma durante períodos cortos de análisis. Se evidenció una gran correlación ( $R^2 = 0.81$ ) en registros filtrados durante 6 segundos de AW. Además, el acoplamiento fue observado en las “ráfagas” gamma de 200 a 500 ms de duración presentes en registros crudos y filtrados durante AW; estas “ráfagas” gamma acopladas también se identifican claramente por su potencia (Figura 11), así como en la función de correlación cruzada (Figura 10). En contraste, el acoplamiento de la banda gamma desapareció durante el sueño REM (Figuras 9, 10 y 11).

### 5.3. Coherencia gamma durante la vigilia

Es bien conocido que la potencia y la coherencia gamma aumentan durante la vigilia en animales y humanos (Llinas & Ribary. 1993; Maloney et al., 1997; Rieder et al., 2010). En el gato, la coherencia de la banda gamma se incrementa durante la AW entre electrodos localizados en sitios corticales y talámicos (Bouyer et al., 1981). En el presente trabajo demostramos que durante AW la coherencia gamma aumenta entre distintas áreas corticales. Este incremento de coherencia ocurre durante estados de alerta que son inducidos por estimulación con sonido, luz, o con la colocación de un espejo en frente del animal (o inmediatamente después de estos procedimientos, como se observa en las Figuras 12 y 13). La coherencia gamma también aumenta cuando el nivel de alerta es alto al principio del registro o cuando un individuo entra en la sala de registros (Figura 12). Por lo tanto es el estado de alerta *per se*, y no el estímulo lo que incrementa la coherencia en la banda gamma.

Es importante destacar que el incremento de coherencia gamma es muy marcado incluso si lo comparamos con la QW (Figuras 12, 13 y 14), y que se limita a una banda de frecuencias bastante estrecha entre 30 y 45 Hz con un vértice en aproximadamente 37 Hz (Figura 12).

Este aumento del acoplamiento de la actividad EEG en la banda gamma de frecuencias durante AW estuvo presente en todos los pares de áreas corticales analizadas. Eso fue así tanto para la coherencia medida entre cortezas prefrontal y perceptuales, así como entre las cortezas perceptuales. Áreas corticales tan alejadas como la corteza prefrontal y la corteza visual primaria también muestran un aumento de la coherencia (Figuras 15 y 16, Tabla 1). Las diferencias entre los valores de coherencia entre diferentes pares de registros corticales pueden estar relacionadas con la distancia entre los electrodos y con el nivel de conexiones recíprocas entre ellos. (Cantero et al. 2000).

Es importante destacar que al momento de realizar el estímulo sonoro fue necesario darle una gran variabilidad a la frecuencia de presentación, para que este aumento de la coherencia gamma se mantuviera por periodos de tiempo suficientemente largos para su análisis. Si el estímulo sonoro era repetitivo o muy homogéneo, la coherencia gamma se reducía rápidamente a niveles de QW a pocos segundos de haber iniciado el estímulo.

#### **5.4. Aumento de la coherencia gamma durante AW: impacto en las funciones cognitivas**

El cerebro es una red neuronal muy grande en la cual, si bien existen especializaciones funcionales marcadas, las neuronas tienen oportunidades de interactuar entre si a través de pocas uniones sinápticas. Esta conectividad funcional y efectiva es necesaria para sustentar las funciones cognitivas, y permite la coexistencia en circuitos neuronales talamocorticales, de especialización funcional e integración. Según Tononi. (2010), estas características de la conectividad es la responsable de generar la conciencia, permite a nuestras habilidades cognitivas ser dependientes del contexto y adaptarnos al mundo complejo que vivimos.

Nuestros datos muestran que el gran aumento del acoplamiento entre la actividad EEG en la banda gamma de frecuencias de distintas áreas corticales (incluso áreas corticales alejadas) se asocia al estado de alerta provocado por la exposición a estímulos novedosos, más que al estado de vigilia propiamente dicho. Esto sugiere que dicho fenómeno podría estar en la base fisiológica de la integración del procesamiento de información sensorial permitiendo una percepción consciente unificada y selectiva de los estímulos ambientales que son importantes para el animal. En otras palabras el acoplamiento de la actividad en la banda gamma de frecuencias podría ser la base de funciones cognitivas como la atención y la percepción sensorial consciente.

#### **5.5. Coherencia gamma durante el sueño.**

Llinas and Ribary (1993) describieron que durante el sueño REM las oscilaciones a 40 Hz en magneto-encefalograma MEG eran similares en distribución de fase y amplitud a aquellas observadas durante la vigilia; en contraste, la actividad gamma coherente estaba reducida durante el sueño NREM (Llinas & Ribary. 1993). Estos autores también mostraron que las oscilaciones gamma se hacían muy coherentes en ventanas temporales pequeñas (0.6 - 3 segundos) después de la estimulación sensorial durante la vigilia; en otras palabras, los estímulos sensoriales sincronizan (generan un “*reset*”) las oscilaciones gamma. Este efecto no se observa durante el sueño REM. Estos autores consideraron que los ensueños durante el sueño REM representan un estado de híper-alerta en el cual los estímulos sensoriales no pueden acceder al proceso que genera experiencias conscientes (Llinas & Ribary. 1993). También se observó un incremento de coherencia durante el sueño REM en comparación con el sueño NREM en registros de EEG estándar en humanos (Achermann & Borbely.

1998a; b); este efecto fue mas pronunciado entre áreas interhemisféricas anteriores homologas.

Perez-Garci et al. (2001), a diferencia de los estudios anteriores describieron una disminución de la correlación espectral en épocas de 2 segundos en frecuencias rápidas (27-48 Hz) entre áreas corticales frontales y perceptuales intrahemisféricas durante el sueño REM en humanos. (Perez-Garci et al., 2001). Sin embargo, los valores de correlación espectral entre regiones perceptuales fueron similares durante el sueño REM y durante la vigilia. Cantero et al. (2004) utilizaron registros EEG intracraneales en humanos para análisis de coherencia durante el sueño, estos tienen una resolución espacial mucho mayor que las señales registradas con electrodos sobre el cuero cabelludo. Ellos encontraron un aumento significativo de la coherencia gamma en la banda de 35-58 Hz durante la vigilia con respecto al sueño, tanto a nivel local como entre cortezas interhemisféricas distantes. Por el contrario, no encontraron diferencias entre el sueño NREM y el sueño REM. Además, encontraron acoplamiento funcional en la banda gamma entre la neocorteza y el hipocampo durante la vigilia, pero no durante el sueño REM. En un trabajo reciente, Voss et al., (2009) demostraron que la coherencia para todo el espectro disminuye durante el sueño REM comparado con la vigilia; es interesante destacar que durante el sueño lúcido (en el que el individuo es consciente de estar soñando), los valores de coherencia son intermedios entre los de vigilia y sueño REM.

En el presente trabajo, demostramos en el gato que la coherencia gamma intrahemisférica se reduce durante el sueño REM. Eso fue así tanto para la coherencia medida entre cortezas prefrontal y perceptuales, así como entre cortezas perceptuales incluyendo áreas sensoriales primarias y asociativas. Es interesante el hecho de que esta falta de acoplamiento durante el sueño REM se observa en la simple inspección de registros filtrados. Son necesarios más estudios para analizar el nivel de acoplamiento de la banda gamma entre áreas corticales y subcorticales que incrementan su actividad durante el sueño REM, como las cortezas límbicas, la amígdala, etc. (Schwartz & Maquet. 2002).

Nuestra demostración de que existe una reducción en la coherencia gamma durante el sueño REM entre distintas áreas corticales distantes no contradice los resultados de Steriade et al. (1996). que muestran un incremento del acoplamiento local (a lo largo de una columna cortical o entre sitios corticales cercanos) durante estados activados. De hecho, como se observa en la Figura 11, los valores de potencia gamma

(una aproximación de la sincronización gamma local) durante el sueño REM fueron similares a los de la QW y mayores a los del sueño NREM.

### **5.6. Ausencia de coherencia gamma durante el sueño REM: impacto en las funciones cognitivas**

Nuestros resultados en gato y resultados previos en el humano muestran claramente que, comparado con la vigilia, durante el sueño REM existe una disminución de la capacidad de integración entre diferentes cortezas, al menos para las altas frecuencias (Perez-Garci et al., 2001; Cantero et al., 2004; Voss et al., 2009). Este fenómeno, podría estar relacionado con algunos de los patrones únicos de actividad mental del sueño REM. (Hobson. 2009; Nir & Tononi. 2010). De hecho, la prevalencia de pensamientos decrece desde la vigilia al sueño NREM y alcanza un nadir durante el sueño REM (como la coherencia gamma), mientras que las alucinaciones y las emociones siguen un patrón inverso (Fosse et al., 2001).

Llinas y Ribary proponen la hipótesis de que los ensueños durante el sueño REM representan un estado de híper-alerta en el cual los estímulos sensoriales no pueden acceder al proceso que genera experiencias conscientes (Llinas & Ribary. 1993). Otros autores como Cantero et al, Perez-Garci et al y Hobson proponen que las funciones cognitivas están alteradas durante el sueño REM. Según estos autores, durante las experiencias oníricas, que ocurren durante el sueño REM, hay una mayor riqueza sensorial y emocional mientras que las funciones cognitivas son deficientes en comparación con lo que ocurre durante la vigilia dado que presentan incongruencias en el tiempo, en el espacio y en los personajes, así como una importante limitación del pensamiento, distorsión de la realidad y falta de conciencia de estar soñando a pesar de la gran cantidad de evidencia de que la situación no puede ser real. (Cantero et al. 2004; Perez-Garci et al. 2001; Hobson. 2009).

Nuestros resultados muestran una gran diferencia en el acoplamiento entre el EEG en la banda gamma de frecuencias de distintas áreas corticales durante la vigilia y el sueño REM. Este acoplamiento está disminuido durante el sueño REM y aumentado durante la vigilia en especial durante el estado de alerta provocado por la exposición a estímulos novedosos. Esto sugiere que las interacciones funcionales entre diferentes áreas corticales, que son necesarias para sustentar las funciones cognitivas (Tononi. 2010), son diferentes durante la vigilia y el sueño REM. De modo que nuestros resultados, sustentarían la hipótesis propuesta por Cantero et al (2004), Perez-Garci et

al (2001) y Hobson (2009) de que las funciones cognitivas estarían alteradas durante el sueño REM en comparación con la vigilia y el estado de alerta.

Es posible que la activación diferencial de sistemas reguladores (colinérgicos, monoaminérgicos, y peptidérgicos) durante el sueño REM, pueda ser la base de la falta de acoplamiento (Watson et al. 2010). Sin embargo, no es claro que rol juegan estos sistemas de neuromoduladores con respecto a las interacciones corticales a gran escala. Es aceptado que al menos algunos de estos sistemas alteran el rango de frecuencias de las oscilaciones corticales locales (Munk et al. 1996; Rodríguez et al. 2004; Roopun et al. 2010).

Estudios recientes demostraron la presencia de actividad gamma en el sistema activador reticular ascendente (SRAA) y sugieren que esta actividad ayuda a estabilizar la coherencia relacionada con el despertar (Urbano et al. 2012); sin embargo, el rol de la actividad gamma en el SRAA durante el sueño REM aun no se conoce. De todas maneras nuestro estudio no permite determinar los mecanismos que sostienen el incremento de la coherencia en la banda gamma durante AW, ni su disminución durante el sueño REM.

Existen semejanzas entre los fenómenos neurobiológicos del sueño REM y algunas enfermedades psiquiátricas como depresión, esquizofrenia, retardo mental y demencia (Gottesmann & Gottesman. 2007). Se ha sugerido, con respecto a la esquizofrenia, que las características electrofisiológicas, topográficas, farmacológicas y neuroquímicas del sueño REM también pueden encontrarse en la esquizofrenia por lo cual este estado podría ser un buen modelo de la misma. Tanto durante la vigilia en pacientes que padecen esquizofrenia, así como como en el sueño REM en pacientes sanos, el EEG se muestra desincronizado sin ondas alfa. Sin embargo, la actividad y la coherencia entre distintas áreas corticales en la banda gamma de frecuencias no han sido estudiadas en pacientes esquizofrénicos (Gottesmann & Gottesman. 2007)

## **6. CONCLUSIONES**

Nuestros datos muestran una ausencia de interacciones funcionales entre diferentes áreas del neocortex en la frecuencia gamma (30 y 45 Hz) durante el sueño REM en el gato. Por otra parte, durante el estado de alerta provocado por la exposición a estímulos novedosos, estas interacciones aumentan en forma marcada con respecto a los demás estados. Por lo tanto, las interacciones funcionales entre diferentes áreas corticales (reentradas), que son críticas para las funciones cognitivas, son diferentes

durante la vigilia y el sueño REM. Esta falta de acoplamiento de la actividad de frecuencia gamma durante el sueño REM podría estar involucrada en las peculiaridades de las operaciones cognitivas que ocurren durante las actividades mentales que ocurren durante los ensueños, que son un fenómeno característico del sueño REM.

## 7. PERSPECTIVAS

En base a los resultados encontrados las estrategias de investigación a realizar en el futuro serán las siguientes:

- Analizar el nivel de acoplamiento de la banda gamma entre áreas corticales interhemisféricas
- Analizar el nivel de acoplamiento de la banda gamma entre áreas corticales y subcorticales que incrementan su actividad durante el sueño REM. como las cortezas límbicas y la amígdala.
- Analizar el nivel de acoplamiento de la banda gamma alta (60-150 Hz) durante la vigilia y el sueño.
- Analizar como el nivel de acoplamiento de la banda gamma entre áreas corticales es alterado por fármacos que afectan el estado de conciencia y las funciones cognitivas.
- Analizar el nivel de acoplamiento de la banda gamma entre distintas áreas corticales en registros EEG humanos en la clínica ya sea en pacientes sanos como en pacientes con patologías que afectan las funciones cognitivas.

## 8. REFERENCIAS.

- Achermann. P. & Borbely. A.A. (1998a) Coherence analysis of the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*. **85**. 1195-1208.
- Achermann. P. & Borbely. A.A. (1998b) Temporal evolution of coherence and power in the human sleep electroencephalogram. *J Sleep Res*. **7 Suppl 1**. 36-41.
- Berman. A.L. & Jones. E.G. (1982) *The thalamus and basal telencephalum of the cat. A citoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates*. University of Wisconsin. Madison.
- Bouyer. J.J., Montaron. M.F. & Rougeul. A. (1981) Fast fronto-parietal rhythms during combined focused attentive behavior and immobility in cat: cortical and thalamic localizations. *Electroencephalogram Clin Neurophysiol*. **51**. 244-252.

- Bressler. S.L., Coppola. R. & Nakamura. R. (1993) Episodic multiregional cortical coherence at multiple frequencies during visual task performance. *Nature*. **366**. 153-156.
- Bullock. T.H. (1997) Signals and signs in the nervous system: the dynamic anatomy of electrical activity is probably information-rich. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **94**. 1-6.
- Bullock. T.H. & McClune. M.C. (1989) Lateral coherence of the electrocorticogram: a new measure of brain synchrony. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. **73**. 479-498.
- Bullock. T.H., McClune. M.C., Achimowicz. J.Z., Iragui-Madoz. V.J., Duckrow. R.B. & Spencer. S.S. (1995a) EEG coherence has structure in the millimeter domain: subdural and hippocampal recordings from epileptic patients. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. **95**. 161-177.
- Bullock. T.H., McClune. M.C., Achimowicz. J.Z., Iragui-Madoz. V.J., Duckrow. R.B. & Spencer. S.S. (1995b) Temporal fluctuations in coherence of brain waves. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **92**. 11568-11572.
- Bullock. T.H., McClune. M.C. & Enright. J.T. (2003) Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series. *Neuroscience*. **121**. 233-252.
- Buzsaki. G. & Wang. X.J. (2012) Mechanisms of gamma oscillations. *Annu Rev Neurosci*. **35**. 203-225.
- Braun. A.R., Balkin. T.J., Wesenten. N.J., Carson. R.E., Varga. M., Baldwin. P., Selbie. S., Belenky. G. & Herscovitch. P., Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. An H2 (15) O PET study. *Brain*. 120 (Pt 7) (1997) 1173-97
- Cantero. J.L., Atienza. M., Madsen. J.R. & Stickgold. R. (2004) Gamma EEG dynamics in neocortex and hippocampus during human wakefulness and sleep. *Neuroimage*. **22**. 1271-1280.
- Cantero. J.L., Atienza. M. & Salas. R.M. (2000) [Clinical value of EEG coherence as electrophysiological index of cortico-cortical connections during sleep]. *Rev Neurol*. **31**. 442-454.
- Carskadon M. W. (2005). Normal Human Sleep: An Overview. In: Principles and practices of sleep medicine (Meir H. Kryger. T. R., William C. Dement. ed). pp 13-23 Philadelphia: Elsevier-Saunders.
- Castro. S., Benedetto. L., Gutierrez. M., Falconi. A. & Torterolo. P. (2010) "Coherence" in the cortical electrical activity during sleep and wakefulness *3rd International Congress on Sleep Medicine and 12th Brazilian Congress on Sleep Medicine.*, San Pablo.
- Castro. S., Gutierrez. M., Falconi. A., Chase. M. & Torterolo. P. (2011) Absence of EEG gamma (35-40Hz) coherence characterizes REM sleep and differentiates it



from wakefulness *41st annual meeting of the Society for Neuroscience*, Washington.

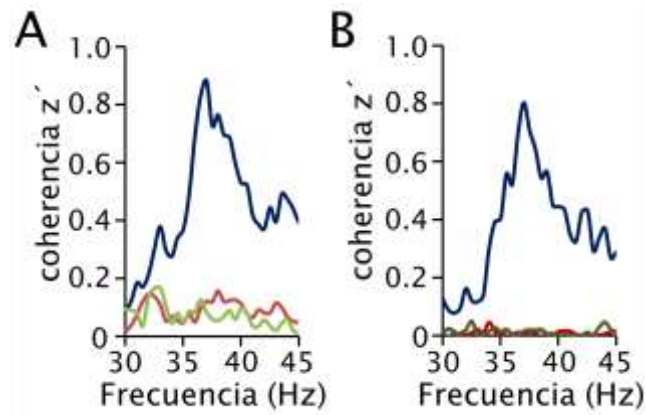
- Corsi-Cabrera. M., Miro. E., del-Rio-Portilla. Y., Perez-Garci. E., Villanueva. Y. & Guevara. M.A. (2003) Rapid eye movement sleep dreaming is characterized by uncoupled EEG activity between frontal and perceptual cortical regions. *Brain Cogn.* **51**. 337-345.
- Das. N.N. & Gastaut. H. (1955) Variations de l'activite electrique du cerveau. du coeur et des muscles squellettiques au cours de la meditation et de l'extase yoguique. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* **6:211**.
- Dement. W. & Kleitman. N., (1957) The relation of eye movements during sleep to dream activity: an objective method for the study of dreaming. *J Exp Psychol.* **53** 339-46.
- Eckhorn. R., Bauer. R., Jordan. W., Brosch. M., Kruse. W., Munk. M. & Reitboeck. H.J., Coherent oscillations: a mechanism of feature linking in the visual cortex? Multiple electrode and correlation analyses in the cat. *Biol Cybern.* **60** (1988) 121-30.
- Edelman. G.M. & Tononi. G. (2000) *A universe of consciousness*. Basic Books. New York.
- Fosse. R., Stickgold. R. & Hobson. J.A. (2001) Brain-mind states: reciprocal variation in thoughts and hallucinations. *Psychol Sci.* **12**. 30-36.
- Fuster. J.M. (1989) *The prefrontal cortex*. Raven Press. New York.
- Gottesmann. C & Gottesman. I. (2007). The neurobiological characteristics of rapid eye movement (REM) sleep are candidate endophenotypes of depression, schizophrenia, mental retardation and dementia. *Progress in Neurobiology.* **81.4**. 237-250.
- Harle. M., Rockstroh. B.S., Keil. A., Wienbruch. C. & Elbert. T.R. (2004) Mapping the brain's orchestration during speech comprehension: task-specific facilitation of regional synchrony in neural networks. *BMC Neurosci.* **5**. 40.
- Hobson. J.A. (2009) REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. *Nat Rev Neurosci.* **10**. 803-813.
- Jasper. H.H. & Andrews. H.L. (1938) Brain potentials and voluntary muscle activity in man. *Journal of Neurophysiology.* **1**. 87-100.
- John. E.R. (2002) The neurophysics of consciousness. *Brain Res Brain Res Rev.* **39**. 1-28.
- Libet. B., Pearl. D.K., Morledge. D.E., Gleason. C.A., Hosobuchi. Y. & Barbaro. N.M. (1991) Control of the transition from sensory detection to sensory awareness in man by the duration of a thalamic stimulus. The cerebral 'time-on' factor. *Brain.* **114 (Pt 4)**. 1731-1757.

- Llinas. R. & Ribary. U. (1993) Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **90**. 2078-2081.
- Llinas. R., Ribary. U., Contreras. D. & Pedroarena. C. (1998) The neuronal basis for consciousness. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. **353**. 1841-1849.
- Maloney. K.J., Cape. E.G., Gotman. J. & Jones. B.E. (1997) High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. *Neuroscience*. **76**. 541-555.
- Markowitsch. H.J. & Pritzel. M. (1977) A stereotaxic atlas of the prefrontal cortex of the cat. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. **37**. 63-81.
- Mashour. G.A. (2006) Integrating the science of consciousness and anesthesia. *Anesth Analg*. **103**. 975-982.
- Mileykovskiy BY, Kiyashchenko LI. & Siegel JM (2005) Behavioral correlates of activity in identified hypocretin/orexin neurons. *Neuron* 46:787-798.
- Morrison. A.R. (1983) A window on the sleeping brain. *Sci Am*. **248**. 94-102.
- Munk. M.H., Roelfsema. P.R., Konig. P., Engel. A.K. & Singer. W. (1996) Role of reticular activation in the modulation of intracortical synchronization. *Science*. **272**. 271-274.
- Nir. Y., Mukamel. R., Dinstein. I., Privman. E., Harel. M., Fisch. L., Gelbard-Sagiv. H., Kipervasser. S., Andelman. F., Neufeld. M.Y., Kramer. U., Arieli. A., Fried. I. & Malach. R. (2008) Interhemispheric correlations of slow spontaneous neuronal fluctuations revealed in human sensory cortex. *Nat Neurosci*. **11**. 1100-1108.
- Nir. Y. & Tononi. G. (2010) Dreaming and the brain: from phenomenology to neurophysiology. *Trends Cogn Sci*. **14**. 88-100.
- Nunez. P.L., Srinivasan. R., Westdorp. A.F., Wijesinghe. R.S., Tucker. D.M., Silberstein. R.B. & Cadusch. P.J. (1997) EEG coherency. I: Statistics, reference electrode, volume conduction, Laplacians, cortical imaging, and interpretation at multiple scales. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. **103**. 499-515.
- Pace-Schott. E., The neurobiology of dreaming. In M.H. Kryger, T. Roth and W.C. Dement (Eds.). Principles and practices of sleep medicine. Elsevier-Saunders. Philadelphia. 2005. pp. 551-564.
- Perez-Garci. E., del-Rio-Portilla. Y., Guevara. M.A., Arce. C. & Corsi-Cabrera. M. (2001) Paradoxical sleep is characterized by uncoupled gamma activity between frontal and perceptual cortical regions. *Sleep*. **24**. 118-126.
- Rechtschaffen. A. (1978) The single-mindedness and isolation of dreams. *Sleep*. **1**. 97-109.
- Rieder. M.K., Rahm. B., Williams. J.D. & Kaiser. J. (2010) Human gamma-band activity and behavior. *Int J Psychophysiol*. **79**. 39-48.

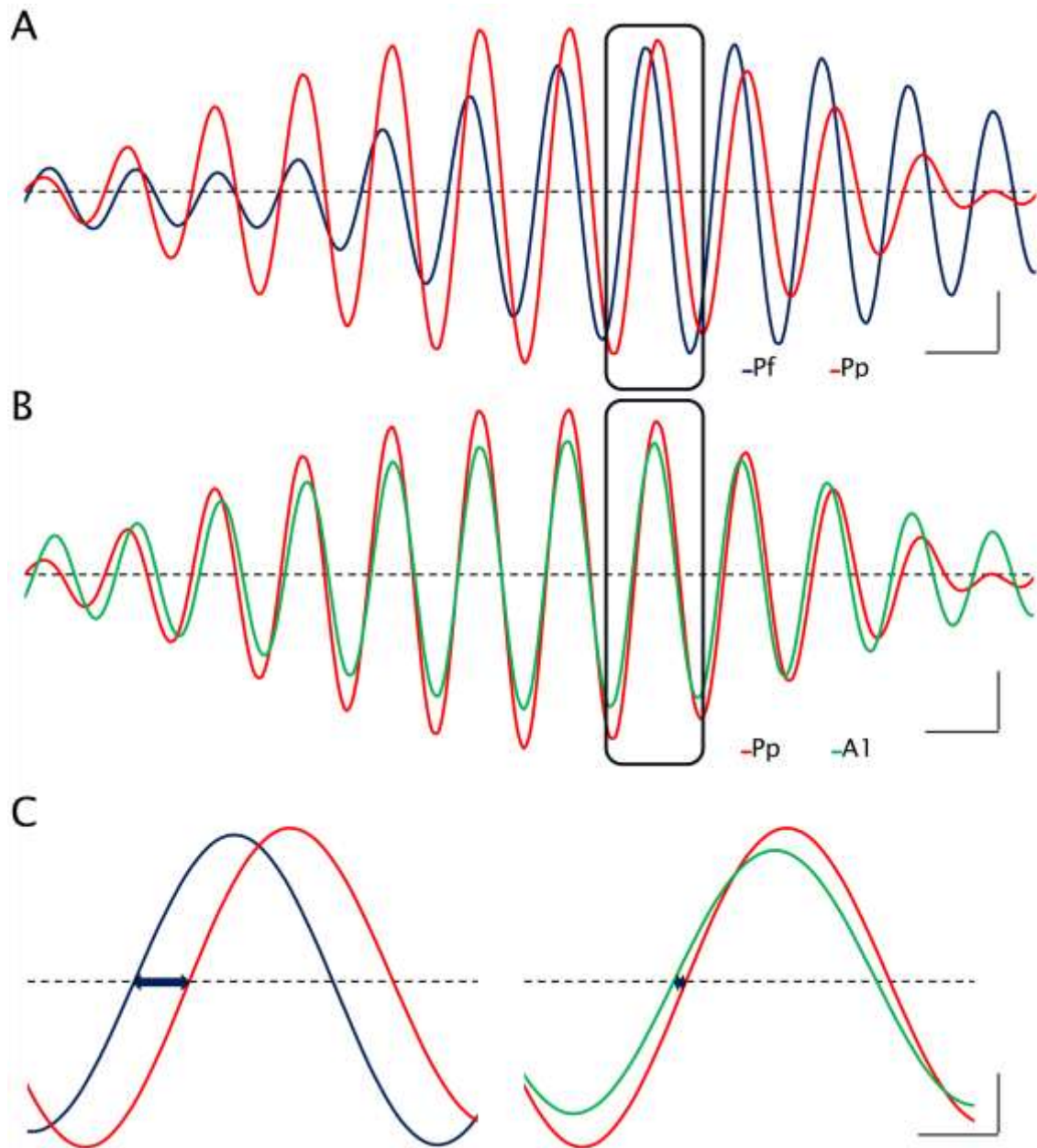
- Rodriguez. R., Kallenbach. U., Singer. W. & Munk. M.H. (2004) Short- and long-term effects of cholinergic modulation on gamma oscillations and response synchronization in the visual cortex. *J Neurosci.* **24**. 10369-10378.
- Rajkowski J. Kubiak P. & Aston-Jones G (1994) Locus coeruleus activity in monkey: phasic and tonic changes are associated with altered vigilance. *Brain Res Bull* **35**:607-616.
- Roopun. A.K., Lebeau. F.E., Ramell. J., Cunningham. M.O., Traub. R.D. & Whittington. M.A. (2010) Cholinergic neuromodulation controls directed temporal communication in neocortex in vitro. *Front Neural Circuits.* **4**. 8.
- Sastre. J.P. & Jouvet. M. (1979). Oneiric behavior in cats. *Physiol Behav.* **22**. 979-989.
- Scannell. J.W., Blakemore. C. & Young. M.P. (1995) Analysis of connectivity in the cat cerebral cortex. *J Neurosci.* **15**. 1463-1483.
- Schwartz. S. & Maquet. P. (2002) Sleep imaging and the neuro-psychological assessment of dreams. *Trends Cogn Sci.* **6**. 23-30.
- Schoffelen. J.M., Oostenveld. R. & Fries. P., Neuronal coherence as a mechanism of effective corticospinal interaction. *Science.* **308** (2005) 111-3.
- Siegel. M., Donner. T.H. & Engel. A.K. (2012) Spectral fingerprints of large-scale neuronal interactions. *Nat Rev Neurosci.* **13**. 121-134.
- Steriade. M., Amzica. F. & Contreras. D. (1996) Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation. *J Neurosci.* **16**. 392-417.
- Steriade. M., (1997) Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cereb Cortex.* **7** 583-604.
- Thompson. R.F., Johnson. R.H. & Hoopes. J.J. (1963) Organization of auditory, somatic sensory, and visual projection to association fields of cerebral cortex in the cat. *J Neurophysiol.* **26**. 343-364.
- Tiitinen. H., Sinkkonen. J., Reinikainen. K., Alho. K., Lavikainen. J. & Naatanen. R. (1993) Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans. *Nature.* **364**. 59-60.
- Tononi. G. (2010) Information integration: its relevance to brain function and consciousness. *Arch Ital Biol.* **148**. 299-322.
- Tortorolo. P., Benedetto. L., Lagos. P., Sampogna. S. & Chase. M.H. (2009) State-dependent pattern of Fos protein expression in regionally-specific sites within the preoptic area of the cat. *Brain Res.* **1267**. 44-56.
- Tortorolo. P., Morales. F.R. & Chase. M.H. (2002) GABAergic mechanisms in the pedunculo-pontine tegmental nucleus of the cat promote active (REM) sleep. *Brain Res.* **944**. 1-9.

- Tortero P., Ramos. O.V., Sampogna. S. & Chase. M.H. (2011a) Hypocretinergic neurons are activated in conjunction with goal-oriented survival-related motor behaviors. *Physiol Behav.* **104**. 823-830.
- Tortero P., Sampogna. S. & Chase. M.H. (2011b) A restricted parabrachial pontine region is active during non-rapid eye movement sleep. *Neuroscience.* **190**. 184-193.
- Tortero P., & Vanini G. Nuevos conceptos sobre la generación y el mantenimiento de la vigilia. *Rev Neurol* 2010; 50: 747-58.
- Tortero P., Yamuy. J., Sampogna. S., Morales. F.R. & Chase. M.H. (2003) Hypocretinergic neurons are primarily involved in activation of the somatomotor system. *Sleep.* **1**. 25-28.
- Uhlhaas. P.J., Pipa. G., Lima. B., Melloni. L., Neunenschwander. S., Nikolic. D. & Singer. W. (2009) Neural synchrony in cortical networks: history. concept and current status. *Front Integr Neurosci.* **3**. 17.
- Uhlhaas. P.J., Pipa. G., Neunenschwander. S., Wibral. M. & Singer. W. (2011) A new look at gamma? High- (>60 Hz) gamma-band activity in cortical networks: function. mechanisms and impairment. *Prog Biophys Mol Biol.* **105**. 14-28.
- Urbano. F.J., Kezunovic. N., Hyde. J., Simon. C., Beck. P. & Garcia-Rill. E. (2012) Gamma band activity in the reticular activating system. *Front Neurol.* **3**. 6.
- Ursin. R. & Serman. M. (1981) *Manual for standardized scoring of sleep and waking states in adult cats.* BIS/BRI. University of California. Los Angeles.
- Velik. R. (2009) From single neuron-firing to consciousness--towards the true solution of the binding problem. *Neurosci Biobehav Rev.* **34**. 993-1001.
- von der Malsburg. C. (1995) Binding in models of perception and brain function. *Curr Opin Neurobiol.* **5**. 520-526.
- Voss. U., Holzmann. R., Tuin. I. & Hobson. J.A. (2009) Lucid dreaming: a state of consciousness with features of both waking and non-lucid dreaming. *Sleep.* **32**. 1191-1200.
- Watson. C., Baghdoyan. H. & Lydic. R. (2010) A neurochemical perspective on states of consciousness. In Hudetz. A.G., Pearce. R. (eds.) *Suppressing the Mind. Contemporary Clinical Neuroscience.* Humana Press. pp. 33-79.
- Yuval-Greenberg. S., Tomer. O., Keren. A.S., Nelken. I. & Deouell. L.Y. (2008) Transient induced gamma-band response in EEG as a manifestation of miniature saccades. *Neuron.* **58**. 429-441.

## 9. FIGURAS SUPLEMENTARIAS



**Figura suplementaria 1.** Señales extracerebrales no determinan la coherencia gamma. A. Coherencia gamma entre registros simultáneos de EEG de corteza prefrontal (Pf) y parietal posterior (Pp) (azul); Pf y electromiograma temporal (EMG. rojo) y Pp y EMG temporal (verde). B. Coherencia gamma entre registros simultáneos de EEG de corteza prefrontal (Pf) y parietal posterior (Pp) (azul); Pf y electro-oculograma ipsilateral (EOG. verde) y Pp y EOG ipsilateral (rojo). Todos estos registros fueron monopolares con el electrodo indiferente colocado en el seno frontal.



**Figura suplementaria 2.** Desfasajes entre las ondas de los registros corticales simultáneos aumenta con la distancia entre electrodos de registro. A. Registros simultáneos durante AW filtrados para observar solo la banda gamma entre 35 y 40 Hz de las cortezas prefrontal y parietal posterior. B. Registros simultáneos durante AW filtrados para ver solo la banda gamma entre 35 y 40 Hz de las cortezas parietal posterior y auditiva primaria. Barras de calibración: 0.02 segundos y 5  $\mu$ V. C. Las oscilaciones gamma marcadas en A y B se muestran con un mayor tiempo de calibración. Barras de calibración: 0.005 segundos. Calibración de voltaje igual que en A y en B. Desfasaje: 4 ms entre registros Pf-Pp. 1 ms entre registros Pp-A1. Distancias entre electrodos. 17 mm para Pf-Pp y 6 mm para Pp-A1.

## 10. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS

El presente trabajo de tesis, basada en el análisis de coherencia de la banda gamma (30-45 Hz) del EEG durante la vigilia y el sueño, ha resultado en las siguientes comunicaciones a congresos en formato de poster:

Castro S, Benedetto L, Falconi A, Torterolo P. (2009) Actividad sincrónica cortical durante los comportamientos de vigilia y de sueño. Segundas Jornadas Uruguayas de Comportamiento Animal.

Castro. S., Benedetto. L., Gutierrez. M., Falconi. A. & Torterolo. P. (2009) "Coherence" in the cortical electrical activity during sleep and wakefulness *3rd International Congress on Sleep Medicine and 12th Brazilian Congress on Sleep Medicine.*, San Pablo.

Castro S, Gutierrez M, Fernandez Liber, Benedetto L, Falconi A, Torterolo P. (2010). Actividad "coherente" del electroencefalograma durante la vigilia y el sueño. XIII Jornada de la SUB

Castro. S., Gutierrez. M., Falconi. A., Chase. M. & Torterolo. P. (2011) Absence of EEG gamma (35-40Hz) coherence characterizes REM sleep and differentiates it from wakefulness. JUCAIII Montevideo.

Castro. S., Gutierrez. M., Falconi. A., Chase. M. & Torterolo. P. (2011) Absence of EEG gamma (35-40Hz) coherence characterizes REM sleep and differentiates it from wakefulness 41st annual meeting of the Society for Neuroscience., Washington.

Castro. S., Falconi. A., Chase. M. & Torterolo. P. (2012). Estudio de la "coherencia" de la banda gamma de frecuencias (35-45 Hz) del EEG durante la vigilia y el sueño. XIV Jornadas de la SUB. Piriápolis, Maldonado.

Castro. S., Falconi. A., & Torterolo. P. (2012). Coherent neocortical 60-200 Hz high gamma band oscillations are not present during REM sleep. Primer congreso FALAN., Cancun.

Los datos que originaron esta tesis han dado lugar al siguiente artículo científico en proceso de publicación:

Castro. S., Falconi. A., Chase. M. & Torterolo. P. (2012) Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. *European Journal of Neuroscience*. En revision.