

Dinámica de la complejidad neural y las predicciones auditivas en diferentes estados de conciencia

PEDECIBA Biología



Claudia Pascovich Rognoni

Supervisor: Prof. T. Bekinschtein

Prof. P. Torterolo

Unidad Académica de Fisiología

Universidad de la República

Esta disertación es enviada para el grado de

Doctora en Neurociencias

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a todas las personas que me han ayudado en este trabajo: A mis directores, Dr. Tristán Andrés Bekinschtein y Dr. Pablo Daniel Torterolo, y al Dr. Agustín Ibañez por su gran aporte a mi formación académica, y su invaluable ayuda en la generación de este trabajo, desde la planificación de los experimentos, su realización, publicación del trabajo y redacción de la tesis.

Un agradecimiento especial a las personas que colaboraron o contribuyeron directamente con este trabajo: Santiago Castro, Andrés Canales Johnson, Pedro A.M. Mediano, Daniel Bor, Alicia Costa, Diego Mateos, Joaquín González, José Pedro Castro, Diego Gallo y Alejo Rodríguez.

También agradezco a Samika Kumar, Yanhzi Xo, Alejandro Chandía, Laura Scolp, Nicolas Rubido, y a mi querido Andrew Hopkinson y a mi familia por su invaluable apoyo constante.

También se agradece a las instituciones que financiaron y/o hicieron posible este trabajo: Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina (Universidad de la República), Departamento de Psicología (University of Cambridge, UK), King's College of the University of Cambridge, Comisión Sectorial de Investigaciones Científicas (CSIC), Comisión Académica de Posgrado (CAP) y Programa para el Desarrollo de las Ciencias Básicas (PE.DE.CI.BA).

Resumen

El estudio de los estados de conciencia es fundamental tanto desde el punto neurobiológico como traslacional. Somos conscientes de los eventos externos e internos durante la vigilia; sin embargo, la conciencia prácticamente se pierde durante el sueño de ondas lentas (SWS, del inglés *Slow Waves Sleep*) o sueño no-REM (NREM) profundo, y se altera durante el sueño REM (del inglés *Rapid Eyes Movements*), donde ocurren principalmente los ensueños o actividad onírica. A su vez, el estado de conciencia se puede modificar bajo la influencia de drogas psicotrópicas.

Existe un interés creciente en cuantificar el nivel de conciencia. Una aproximación es valorarlo utilizando la medida de complejidad de Lempel-Ziv (CLZ) de la actividad del electroencefalograma (EEG), ya que los resultados de esta medida se han relacionado con el nivel de conciencia.

A su vez, ¿cómo responde el cerebro a un estímulo inesperado en los distintos estados de conciencia? Se ha propuesto que durante la vigilia los organismos predicen cambios en el medio ambiente, momento a momento, mediante un proceso llamado predicción adaptativa. Se puede obtener un correlato neural de este proceso registrando los potenciales evocados cognitivos, como la negatividad de desajuste (MMN, del inglés *Mismatch Negativity*). Esta se obtiene experimentalmente presentando un estímulo desviado de forma intermitente en un fondo de estímulos estándar repetitivos, que genera una señal de error. El MMN, se puede obtener con diferentes protocolos de estimulación auditiva, como el paradigma Roving. Un correlato similar al MMN, llamado Efecto Local, es obtenido con el paradigma Global Local.

En este último, además de estímulos desviados se presentan omisiones del estímulo, que representarían correlatos de predicción más puros, en ausencia de información auditiva.

El objetivo general de esta tesis es el estudio de la actividad cognitiva durante distintos estados de conciencia naturales (vigilia, sueño ligero o LS (del inglés *Light Sleep*), SWS y sueño REM) o alterados por drogas psicotrópicas (dosis sub-anestésicas de ketamina, atropina y escopolamina), utilizando el gato (*Felis Silvestris Catus*) como modelo animal.

Para esto utilizamos dos aproximaciones experimentales: 1. El estudio de la dinámica de la complejidad eléctrica cerebral del ECoG en todos los estados mencionados. 2. El estudio de los correlatos neurales de las predicciones auditivas utilizando potenciales evocados cognitivos durante la vigilia, el sueño NREM y el sueño REM.

Para la primera aproximación, en gatos previamente preparados para registros polisomnográficos, analizamos la CLZ del EEG de múltiples áreas corticales y de electrogramas de los núcleos talámicos visual y auditivo. Observamos que la CLZ sigue un patrón homogéneo para todas las cortezas y los núcleos talámicos, y se caracteriza por una disminución durante el LS, una disminución aún mayor durante el SWS, y un nivel similar a la vigilia durante el sueño REM.

La ketamina que a dosis bajas es considerada alucinógena, mostró una mayor variabilidad en la CLZ, produciendo un aumento en algunas regiones (corteza prefrontal y auditiva), y una disminución en otras áreas (corteza parietal posterior). Por otra parte la administración de atropina y escopolamina, que producen una marcada pérdida de memoria, y un EEG con características combinadas de sueño NREM y vigilia alerta, muestra una disminución global de la CLZ.

Para la segunda aproximación, mediante la utilización de los protocolos de estimulación Roving y Global Local, comparamos dos correlatos neurales de las predicciones auditivas, el MMN y el Efecto Local durante la vigilia y el sueño. Nuestros resultados mostraron que los potenciales cognitivos generados por ambos protocolos se registran en distintas regiones

cerebrales y que en comparación con la vigilia, en la mayoría de estas regiones se reducen durante el sueño NREM y REM. Hemos observado a su vez que si bien el Efecto Local puede estar presente durante el sueño NREM, el efecto de omisión no se evidencia.

En conclusión, nuestros resultados manifiestan que tanto la dinámica de la complejidad neural, como las predicciones auditivas son dependientes de los estados de conciencia.

Índice general

Índice de figuras	XV
Índice de cuadros	XVII
Nomenclatura	XIX
1. Introducción	1
1.1. Conciencia	1
1.2. Estados fisiológicos y alterados de conciencia	5
1.2.1. Vigilia y sueño	6
1.2.2. Estados alterados de conciencia	7
1.3. Complejidad de Lempel-Ziv como herramienta para medir el nivel de conciencia	10
1.4. Predicción adaptativa	11
1.4.1. Potenciales evocados cognitivos como herramienta de estudio de las predicciones auditivas	11
2. Objetivos generales de la tesis	13
3. Metodología general	15
3.1. Introducción	15
3.2. Animales	15

3.3. Procedimiento quirúrgico	17
3.4. Adquisición de datos	18
4. El sueño modula la dinámica de la complejidad neural	21
4.1. Introducción	21
4.2. Objetivo específico	22
4.3. Hipótesis	22
4.4. Metodología	23
4.4.1. Diseño experimental	23
4.4.2. Análisis de datos	23
4.5. Resultados	25
4.5.1. La complejidad del ECoG depende del estado	25
4.6. Discusión	30
4.6.1. Consideraciones técnicas	31
4.7. Conclusiones	31
5. Modulación de la complejidad electrocortical por ketamina	33
5.1. Introducción	33
5.2. Objetivos específicos	34
5.3. Hipótesis	34
5.4. Metodología	35
5.4.1. Diseño experimental	35
5.4.2. Análisis de datos	36
5.5. Resultados	36
5.5.1. La ketamina modula la complejidad en forma diferente en las distintas cortezas	36

5.5.2.	Los estímulos auditivos no alteran la complejidad del ECoG bajo los efectos de la ketamina	39
5.6.	Discusión	41
5.6.1.	La complejidad de la señal es modulada bajo dosis subanestésicas de ketamina	42
5.6.2.	Mecanismo de acción de la ketamina; hipótesis interpretativa de la heterogeneidad en la CLZ cortical	43
5.6.3.	Complejidad y teorías sobre la conciencia	45
5.6.4.	Estimulación auditiva y ketamina	46
5.7.	Conclusiones	47
6.	La escopolamina y atropina alteran la complejidad electrocortical	49
6.1.	Introducción	49
6.2.	Objetivo específico	50
6.3.	Hipótesis	50
6.4.	Metodología	51
6.5.	Resultados	52
6.5.1.	La complejidad disminuye homogéneamente en todas las áreas bajo escopolamina y atropina	52
6.6.	Discusión	55
6.6.1.	Cambios en la complejidad bajo el efecto de atropina y escopolamina comparado con el efecto de dosis subanestésicas de ketamina y las etapas de sueño	56
6.6.2.	Efectos en el estado de conciencia y funciones cognitivas de anticolinérgicos a altas dosis	57
6.7.	Conclusiones	58

7. Correlatos neurales de las predicciones auditivas y su modulación durante el sueño	59
7.1. Introducción	59
7.2. Objetivos específicos	61
7.3. Hipótesis	61
7.4. Métodos	61
7.4.1. Protocolo experimental con tareas cognitivas	61
7.4.2. Paradigmas experimentales	62
7.4.3. Preprocesamiento	66
7.4.4. Análisis de los ERPs	67
7.4.5. Estadística	68
7.5. Resultados	68
7.5.1. Señal de error generada por el paradigma Roving	68
7.5.2. MMN durante el sueño	71
7.5.3. Señal de error generada por el paradigma Global Local	71
7.5.4. Efecto Local durante el sueño	74
7.5.5. Respuesta de omisión durante la vigilia y el sueño NREM	74
7.6. Discusión	78
7.6.1. Descripción de la señal de error en nuestro modelo experimental	80
7.6.2. MMN y Efecto Local durante el sueño	81
7.6.3. Respuesta de omisión	83
7.6.4. Limitaciones	84
7.7. Conclusiones	84
8. Discusión general y perspectivas	87
8.1. Síntesis y discusión general de los resultados	87
8.2. Perspectivas	89

Índice general	XIII
8.2.1. CLZ durante el sueño	89
8.2.2. CLZ y sustancias psicotrópicas	90
8.2.3. Predicciones auditivas	90
Bibliografía	91
Apéndice A. Material suplementario	103
A.1. Figuras	103
A.2. Publicaciones	107

Índice de figuras

1.1. Mecanismo de acción de la ketamina	9
1.2. Efecto <i>mismatch</i> y de omisión en el humano.	12
3.1. Localización de los electrodos implantados en un gato.	18
4.1. Esquema del diseño experimental.	23
4.2. Esquema de binarización para cálculo de la CLZ.	25
4.3. Esquema del diseño experimental.	26
4.4. Dinámica cortical de la CLZ durante el sueño.	27
4.5. Tamaño del efecto de las diferencias en la dinámica cortical de la CLZ durante el sueño.	28
5.1. Esquema del diseño experimental.	35
5.2. Registros crudos de las diferentes dosis subanestésicas de ketamina en dos cortezas representativas.	37
5.3. Curvas dosis-respuesta de la dinámica cortical de la CLZ en función de la dosis de ketamina.	38
5.4. Modulación de CLZ por estimulación auditiva.	40
6.1. Esquema del diseño experimental.	51
6.2. Registros electrocorticográficos de cortezas representativas antes y después de la administración de atropina y escopolamina.	53

6.3. Modulación de la CLZ por Escopolamina y Atropina.	55
7.1. Paradigma Roving.	63
7.2. Paradigma Global Local.	65
7.3. Respuesta MMN en estado de vigilia obtenido en el gato Neg.	69
7.4. Respuesta MMN en estado de vigilia obtenido en el gato Nim.	70
7.5. Modulación del MMN durante el sueño NREM.	72
7.6. Modulación del MMN durante el sueño REM.	73
7.7. Efecto Local en el gato Neg.	75
7.8. Efecto Local en el gato Nim.	76
7.9. Efecto Local durante el sueño NREM.	77
7.10. Efecto de omisión en el gato Neg durante la vigilia y el sueño NREM. . . .	79
A.1. Rereferenciación contra la media global	104
A.2. Efecto de omisión en el gato Nim.	105
A.3. Efecto de omisión en el gato Mic.	106

Índice de cuadros

4.1. Selección entre modelos lineales y no lineales entre diferentes etapas del sueño para cada corteza.	29
5.1. Selección entre modelos lineales y no lineales entre diferentes dosis de ketamina para cada corteza.	39
5.2. Estadística de la modulación de la complejidad de la información por estimulación.	40
5.3. Estadística de la modulación de la CLZ del ECoG por estimulación.	41
6.1. Estadísticas de complejidad antes y después de la administración de Atropina o Escopolamina.	54
7.1. Tipos de bloques presentados en el paradigma Global Local.	66

Nomenclatura

Abreviaturas

A1 Corteza auditiva primaria

CLZ Complejidad de Lempel-Ziv

Co-I Co-Información

DCM Modelo Causal Dinámico

DMT N,N-Dimetiltriptamina

ECG Electrocardiograma

ECoG Electrocorticograma

EMG Electromiograma

EOG Electrooculograma

ERP potenciales relacionados con eventos

GABA ácido gamma amino butírico

GWT Teoría del espacio global de trabajo

HA Hipótesis alternativa

HCN Canales activados por nucleótidos cíclicos

CFI Circunvoluciones Frontales Inferiores

IIT Teoría de la Integración de la Información

LFP Potenciales de campo local

LSD Acido lisérgico

MEG Magnetoencefalograma

MMN Desajuste negativo

N1 Transición al sueño

N2 Sueño ligero

MCD Modelo Causal Dinámico

N3 Sueño de ondas lentas

NMDA N-metil-D-aspartato

NREM Sueño no-REM

PCI Índice de complejidad perturbacional

PET Tomografía por emisión de positrones

PGO Ondas ponto-geniculo-occipitales

REM Sueño REM

SN Sustancia nigra

CTS circunvoluciones Temporales Superiores

STG Giro temporal superior

TMS Estimulación magnética transcraneal

VTa Área tegmental ventral

W Vigilia

Capítulo 1

Introducción

En este capítulo, se introducen aspectos generales relevantes para esta tesis, incluyendo, los estados fisiológicos y alterados de conciencia, así como también la complejidad de Lempel-Ziv (CLZ), una medida que se permitiría aproximarnos a medir el nivel de conciencia. Se describe también cómo es procesada la información sensorial auditiva, haciendo énfasis en las predicciones adaptativas.

1.1. Conciencia

La definición de conciencia no es sencilla, por lo que se han propuesto varias definiciones a lo largo de los años. La conciencia ha sido definida como experiencia subjetiva. ¿Cómo es?, por ejemplo, percibir una escena, soportar el dolor, tener un pensamiento o reflexionar sobre nuestra propia la experiencia [128]. Cuando la conciencia se pierde, como sucede en el sueño sin actividad onírica, desde la perspectiva del sujeto que la experimenta, el mundo entero se desvanece [128].

En 1995, Ned Block propuso una distinción entre “conciencia de acceso” y “conciencia fenoménica”. La conciencia de acceso se refiere a las experiencias que son leídas por los sistemas cognitivo-conductuales y, por lo tanto, los sujetos las informan fácilmente. La con-

ciencia fenoménica, se refiere a las experiencias subjetivas en sí mismas, independientemente de si se recuerdan, o se informan [12].

Stanislas Dehaene define la conciencia como “vigilancia de acceso” [36]. A su vez, diferencia la “vigilancia” de la “vigilia”. La vigilia se refiere al estar despiertos, que depende de mecanismos subcorticales, mientras que “vigilancia” se refiere al nivel de activación de las redes corticales y talámicas que residen en la base de los estados conscientes. Sin embargo, ambos conceptos se diferencian del “acceso consciente”. El acceso consciente es la disponibilidad global de información [7]; es decir, la selección, amplificación y difusión global, de una sola pieza de información seleccionada por su relevancia o importancia para los objetivos actuales. La vigilia, la vigilancia y también la atención son condiciones que permiten el acceso a la conciencia. Son necesarias, pero no siempre suficientes para hacernos percibir determinada porción de información [36]. Estas definiciones son difícilmente objetivables lo que dificulta su estudio.

Una definición operativa y ampliamente aceptada en la práctica clínica es la conciencia como capacidad del individuo de reconocer la realidad circundante y de relacionarse con ella. Esta es una definición que puede resultar incompleta pero es posible de testear clínicamente en seres humanos y nos permite definir estados de conciencia. En animales no podemos decir si reconocen la realidad circundante pero si podemos objetivar su relación con ella.

También se han propuesto varias teorías e hipótesis sobre la conciencia. Algunas de ellas se comentan en el recuadro 1.

Recuadro 1. HIPOTESIS Y TEORIAS SOBRE LA CONCIENCIA

Hipótesis del cerebro entrópico. La entropía es un parámetro adimensional que se utiliza para medir la incertidumbre sobre el estado de un sistema; una alta entropía es sinónimo de un alto desorden.

En esta hipótesis la entropía se aplica en el contexto de los estados de conciencia y su neurodinámica. Según Carhart-Harris y colaboradores la conciencia primaria, anterior al

desarrollo de la conciencia del hombre adulto moderno, sería un estado psicodélico, caracterizado por una mayor entropía en la función cerebral [22, 20]. Estos estados, que incluyen el sueño REM y la psicosis, representan un estilo regresivo de cognición diferente de la conciencia normal.

Siguiendo el principio de energía libre de Friston [46], Carhart-Harris sugiere que el cerebro evolucionó para minimizar la sorpresa y la incertidumbre. En los estados primarios, la cognición es menos precisa y más influenciada por emociones, deseos y ansiedades, siendo más “entrópica” que en los estados de conciencia secundarios como el presente en la vigilia normal [22, 20].

En el estado psicodélico, con un amplio repertorio de conexiones, se infiere que los estados primarios pueden exhibir “criticalidad”, un equilibrio entre el orden y el desorden, mientras que la conciencia normal opera justo por debajo del umbral crítico, disminuyendo la entropía y resultando en una experiencia más restringida [22].

Hipótesis del núcleo dinámico. Tononi y Edelman (1998) propusieron la hipótesis del núcleo dinámico para abordar las propiedades clave de la experiencia consciente: integración y diferenciación. Desarrollaron herramientas como la agrupación funcional y la complejidad neural para medir estos procesos en las actividades neuronales reales, estableciendo criterios operativos para determinar la contribución de grupos neuronales a la conciencia [129].

Concluyeron que solo subconjuntos específicos de grupos neuronales, activados o desactivados en respuesta a una tarea, están asociados con la experiencia consciente. Estos subconjuntos deben lograr alta integración y diferenciación en cientos de milisegundos para contribuir directamente a la experiencia consciente [39, 127].

Proponen el concepto de “núcleo dinámico”, un proceso neuronal unificado en una escala de tiempo de cientos de milisegundos, caracterizado por su integración, patrones de actividad en constante cambio y una interacción significativa entre los grupos neuronales participantes.

Este núcleo dinámico, que no está limitado al sistema talamocortical, incluiría regiones corticotalámicas posteriores relacionadas con la categorización perceptual, interactuando con áreas anteriores implicadas en la formación de conceptos, memoria de valores y planificación [39, 127].

El término “núcleo dinámico” no se refiere a un conjunto único e invariable de áreas cerebrales, sino la composición del núcleo puede cambiar con el tiempo. Debido a que la hipótesis destaca el papel de las interacciones funcionales entre grupos distribuidos de neuronas en lugar de sus propiedades locales, el mismo grupo de neuronas puede a veces ser parte del núcleo dinámico y subyacer a la experiencia consciente, mientras que otras veces puede no serlo y estar involucrado en procesos inconscientes. Además, dado que la participación en el núcleo dinámico depende de la conectividad funcional que cambia rápidamente entre grupos de neuronas más que de la proximidad anatómica, la composición del núcleo puede trascender los límites anatómicos tradicionales.

Teoría de la integración de la información (IIT). La IIT, originalmente propuesta por Giulio Tononi, propone que para que un estado mental sea consciente debe tener un contenido integrado [124–126]. A diferencia de otras teorías de la conciencia, IIT parte de la fenomenología de la experiencia y propone cinco axiomas (existencia, composición, información, integración y exclusión). La teoría luego especifica las condiciones de un mecanismo físico (p. ej., neuronas y sus conexiones) o un sistema (p. ej., un cerebro) deben satisfacer para generar experiencias fenoménicas (referidas como postulados).

Según el axioma de la información, cada experiencia difiere fenomenalmente de otras experiencias posibles [96]. Por ejemplo, la experiencia de un cuadrado azul difiere fenomenalmente de la experiencia de un cuadrado rojo. Según el axioma de integración, cada experiencia es irreducible a sus partes [96].

Es decir, cuando uno lee el término “luna de miel”, no lo percibe como una mera coocurrencia de dos experiencias distintas: una experiencia de la palabra “miel” y una experiencia de la palabra “luna”. Más bien, el término “luna de miel” constituye una experiencia única irreductible que emerge de combinar la palabra “luna” y “miel” [130].

IIT trata estos axiomas como propiedades fundamentales de la experiencia. A la luz de los axiomas antes mencionados, se describen varios postulados para explicar qué tipos de mecanismos físicos podrían dar cuenta de la fenomenología de la experiencia. De acuerdo con los dos postulados de información e integración, la información se integra cuando un mecanismo o sistema genera información no simplemente a través de la combinación de sus componentes discretos sino más bien a través de un tipo de integración que produce mucha más información que la mera combinación de sus partes. IIT postula que para que un mecanismo pueda generar experiencias con fenomenología específica/distinta, debe especificar información (es decir, un “repertorio de causa-efecto”) que no se puede reducir a sus partes [96].

Aunque es discutido en la comunidad científica si los animales tienen conciencia, presentan estados comportamentales como el sueño, en los cuales su relación con el medio está alterada, y que son semejantes en muchos aspectos a los presentes en seres humanos. Por este motivo, una forma operativa de aproximarnos al entendimiento de la conciencia en modelos animales es comparando estos “estados de conciencia”, que consideramos que desde el punto de vista cognitivo serían asimilables a los que experimenta el ser humano.

1.2. Estados fisiológicos y alterados de conciencia

Los estados de conciencia se pueden dividir en dos grandes categorías: fisiológicos (vigilia y sueño) y estados alterados de conciencia.

1.2.1. Vigilia y sueño

Nuestra vida transita a través de tres estados comportamentales en los cuales el nivel de conciencia cambia drásticamente: la vigilia, el sueño no-REM (NREM), y el sueño REM (del inglés *rapid eye movements*) [23]. En el gato, modelo animal de este trabajo, el sueño NREM se puede dividir en sueño ligero (LS, del inglés *Light Sleep*) y sueño de ondas lentas (SWS, del inglés *Slow wave sleep*), mientras que en el humano, se divide en 3 fases: N1 (transición al sueño), N2 (sueño ligero) y N3 o SWS. Cada estado puede ser identificado por la observación de un conjunto de correlatos fisiológicos tales como la actividad eléctrica cerebral, el movimiento de los ojos y el tono muscular que pueden ser registrados mediante el electroencefalograma (EEG), electrooculograma (EOG) y electromiograma (EMG), respectivamente. Además, en el gato, el electrograma del núcleo geniculado lateral presenta en forma distintiva ondas de gran amplitud que aparecen típicamente aisladas o en trenes durante el sueño REM. 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) [135]. En el EEG de mamíferos se pueden observar oscilaciones de diferentes frecuencias. Las más estudiadas son las oscilaciones dentro de las siguientes bandas de frecuencias: delta (0.5-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha (8-12 Hz), beta (12-30 Hz) y gamma (30-100 Hz) [18]. La amplitud y frecuencia del EEG varía en los diferentes estados comportamentales y nos permite fácilmente diferenciar los distintos estados de sueño. La vigilia y el sueño REM se caracterizan por activación del neocórtex, evidenciado por un aumento de la frecuencia y una disminución de la amplitud del trazado del EEG. El sueño NREM presenta en forma característica un EEG donde predominan las ondas de baja frecuencia (delta) y alta amplitud, así como por la presencia de fenómenos electrográficos llamados husos de sueño [132]. Asociado a estos cambios en el EEG, la conciencia se modifica dramáticamente en intensidad y cualidad. Durante la vigilia reconocemos la realidad circundante; en el sueño NREM profundo, la conciencia se esfuma (escasa o nula actividad onírica), mientras que durante

el sueño REM, vivimos percepciones y emociones generadas internamente que llamamos “ensueños” [37]. Los ensueños que ocurren principalmente durante el sueño REM; estos 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. Algunas de las características de las experiencias oníricas, 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 [32]. Esto se relaciona con el hecho de que la actividad neuronal de la corteza prefrontal disminuye durante el sueño REM [16]. A su vez, mientras la actividad de las áreas asociativas multimodales (tanto frontales como parietales) disminuye, aumenta la actividad de las áreas límbicas relacionadas con el control emocional [16].

1.2.2. Estados alterados de conciencia

La conciencia puede ser alterada por una gran variedad de drogas y patologías. En esta tesis nos centraremos en el estado causado por dosis subanestésicas de ketamina y por las drogas anticolinérgicas, atropina y escopolamina. A continuación se explica brevemente sus mecanismos de acción generales y cuáles son sus efectos en el estado de conciencia.

Ketamina

La ketamina se clasifica como un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). A nivel del receptor, la ketamina bloquea los receptores NMDA en las interneuronas corticales de frecuencia de descarga rápida de manera más efectiva que en las neuronas piramidales (Figura 1.1). Esto da como resultado una disminución de la actividad de las interneuronas que utilizan ácido gamma amino butírico (GABA) como neurotransmisor o GABAérgicas [56, 118]. Esta disminución en el tono inhibitorio da como resultado un aumento de la

actividad de las neuronas piramidales (Figura 1.1). A dosis anestésicas altas, se une también al receptor opioide μ de tipo 2, y a receptores opioides sigma. También interactúa con receptores muscarínicos, monoaminérgicos y canales de calcio voltaje dependientes [53, 89].

La ketamina es utilizada actualmente en medicina por sus propiedades sedantes, analgésicas y anestésicas. Se utiliza principalmente para la inducción y mantenimiento de la anestesia general, usualmente en combinación con un sedante. Otros usos incluyen sedación en terapia intensiva, analgesia (particularmente en medicina de emergencia), y tratamiento del broncoespasmo ya que también produce broncodilatación [17, 102].

La ketamina se asocia con cambios significativos en el EEG que dependen de la dosis administrada: en dosis más bajas el EEG se caracteriza por un aumento de las oscilaciones gamma, mientras que en dosis mayores, aun incluso en dosis subanestésicas, también se observan ondas delta [44, 116, 70, 11, 25].

Atropina y Escopolamina

La atropina es un alcaloide, producto del metabolismo secundario de la *Belladonna* (*Atropa Belladonna*) y de otras plantas de la familia Solanáceae. Esta droga se comporta como antagonista muscarínico competitivo, y como medicamento tiene una amplia variedad de efectos. La atropina suprime los efectos del sistema nervioso parasimpático (es decir, es un parasimpaticolítico), ya que los receptores muscarínicos se encuentran en los tejidos efectores de las neuronas post-ganglionares parasimpáticas. Por eso, su administración afecta el corazón, ojos, tubo digestivo y otros órganos.

La escopolamina, hioscina o burundanga es un alcaloide tropánico que se encuentra como metabolito secundario en plantas en la familia de las solanáceas. Es una sustancia afín a la atropina, con similares efectos antimuscarínicos. En dosis bajas se utiliza como fármaco para controlar los mareos por movimiento y las náuseas postoperatorias. Dosis mayores pueden

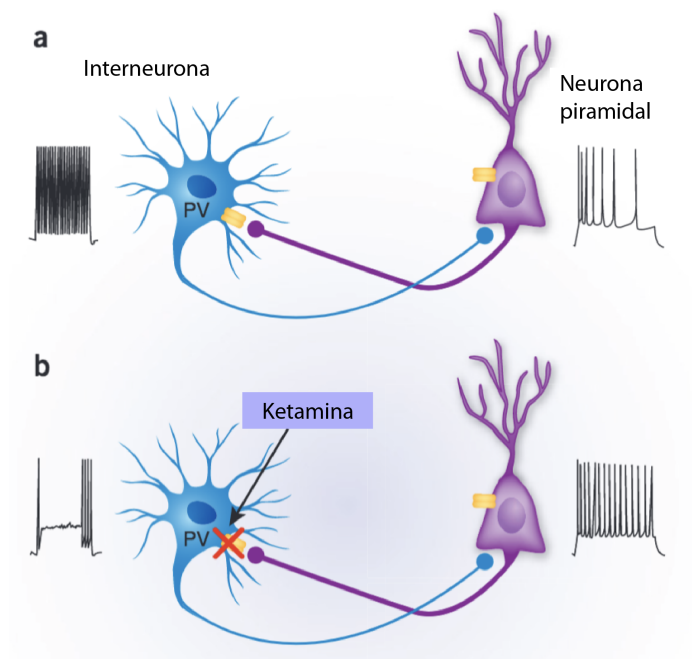


Figura 1.1 Esquema de cómo la ketamina puede conducir a una activación general en la corteza. (a) Las interneuronas GABAérgicas inhiben las neuronas piramidales. Las neuronas piramidales glutamatérgicas activan otras neuronas piramidales (no mostradas) o interneuronas mediante la activación de receptores NMDA y no NMDA. La interneurona contiene la proteína de unión a calcio PV y puede descargar a alta frecuencia, mientras que las neuronas piramidales lo hacen a frecuencias más bajas. (b) La ketamina puede bloquear los receptores NMDA (amarillo) en las interneuronas con más eficacia que bloquea los mismos receptores en las neuronas piramidales. Esto conduce a una regulación a la baja en la actividad de las interneuronas y a un tono inhibitorio reducido. Tomado de Seamans (2008)[118].

causar delirio y otras psicosis, y dosis progresivamente más altas causan estupor y muerte [17].

La atropina y la escopolamina difieren en su farmacocinética; esta última tiene una vida media corta y penetra fácilmente la barrera hematoencefálica, mientras que la atropina lo hace con dificultad [17, 38]. Tanto la escopolamina como la atropina, cuando se administran en dosis altas, generan un estado disociado que se caracteriza por grandes cambios electrocorticográficos a pesar de que el animal permanece vigil. Varios trabajos muestran la aparición de husos y ondas lentas en el EEG tanto en humanos como en animales luego de la administración de atropina o escopolamina [137, 15, 76, 141, 98, 14, 112, 59]. En el gato, resultados de nuestro grupo evidenciaron que la administración de atropina y escopolamina se asocia con un gran aumento en la potencia de las ondas lentas y oscilaciones gamma, que fueron equivalentes en nivel a los observados durante la vigilia alerta [25].

1.3. Complejidad de Lempel-Ziv como herramienta para medir el nivel de conciencia

Una herramienta de análisis fundamental en esta tesis, que es utilizada como medida del nivel de conciencia, es la Complejidad de Lempel-Ziv (CLZ). La CLZ es una medida no lineal que describe qué tan “diversos” son los patrones presentes en una señal. Esta herramienta está relacionada con el número de subcadenas o patrones distintos dentro de una secuencia y con la tasa de su aparición a lo largo de la misma [71]. Este método fue introducido en 1976 por los ingenieros Abraham Lempel y Jacob Ziv para estudiar secuencias binarias [71]. Estas ideas centrales se ampliaron posteriormente para convertirse en la base del conocido algoritmo de compresión zip [148]. Paralelamente, este algoritmo ha sido utilizado para estudiar la diversidad de patrones en señales de diversa naturaleza [145, 83, 50, 114, 115].

1.4. Predicción adaptativa

¿Qué sucede en el cerebro ante la llegada de un estímulo novedoso? El cerebro no funciona como una *tabula rasa* procesando pasivamente los estímulos como si fuera la primera vez, sino que la evolución ha preparado a los organismos para estar listos y predecir los cambios del ambiente momento a momento. Un modelo propuesto para explicar esta capacidad de los organismos es la predicción adaptativa, que plantea que el sistema funciona mediante una jerarquía de procesos neuronales sucesivos que reducen los errores de predicción para mantener un modelo del mundo constantemente actualizado [29, 45, 46, 69, 103, 136, 139].

1.4.1. Potenciales evocados cognitivos como herramienta de estudio de las predicciones auditivas

Una forma de entender las funciones cognitivas es a través del estudio de los Potenciales Evocados Cognitivos, también conocidos como *Event-Related Potentials* (ERPs). Estos son respuestas eléctricas cerebrales que se registran mediante EEG o magnetoencefalografía (MEG), producidos por eventos sensoriales, cognitivos o motores. Se han descrito varios ERPs que se proponen como correlatos de predicciones neurales en el cerebro [123]. En este trabajo nos focalizamos en la negatividad de desajuste (*Mismatch Negativity* o MMN) que fue descubierta en los años 1970 por Naatanen y col. [88]. El MMN es generado mediante el protocolo de estimulación o paradigma Oddball [88], en el cual un estímulo desviado se presenta de forma intermitente en un fondo de estímulos repetitivos regulares estándar generando una señal de error [27, 100]. El MMN se manifiesta como un componente negativo, obtenido mediante la sustracción entre la respuesta generada por el estímulo desviado y el estándar, con una latencia al punto de máximo voltaje de 100 a 250 ms [88].

Desde el trabajo de Naatanen en 1978, se han diseñado distintas variantes de paradigmas Oddball para el estudio de las predicciones auditivas. Una variante es el paradigma Roving,

en el cual el sonido desviado se continúa repitiendo y de esa forma se convierte en estándar, hasta que aparece un nuevo estímulo desviado que luego se convierte en estándar, y así sucesivamente. Este paradigma intenta capturar la señal de error restando importancia a las características del estímulo. Asimismo, Bekinschtein et al. (2009) han diseñado el paradigma Global Local [9], que evalúa la respuesta cerebral a las violaciones de las regularidades de estímulos sonoros en el tiempo; incluye violaciones de las llamadas regularidades temporales “locales” (protocolos cortos de estimulación), o “globales” (en que se viola la regularidad de patrones temporales más extendidos en el tiempo). Este paradigma también permite estudiar una respuesta de predicción más pura a través de la omisión del estímulo desviado [27, 136] (ver Figura 1.2). Se genera así una respuesta que representaría una respuesta *top-down* más pura [27], en ausencia de *bottom-up*, al haber predicción en ausencia de estímulo.

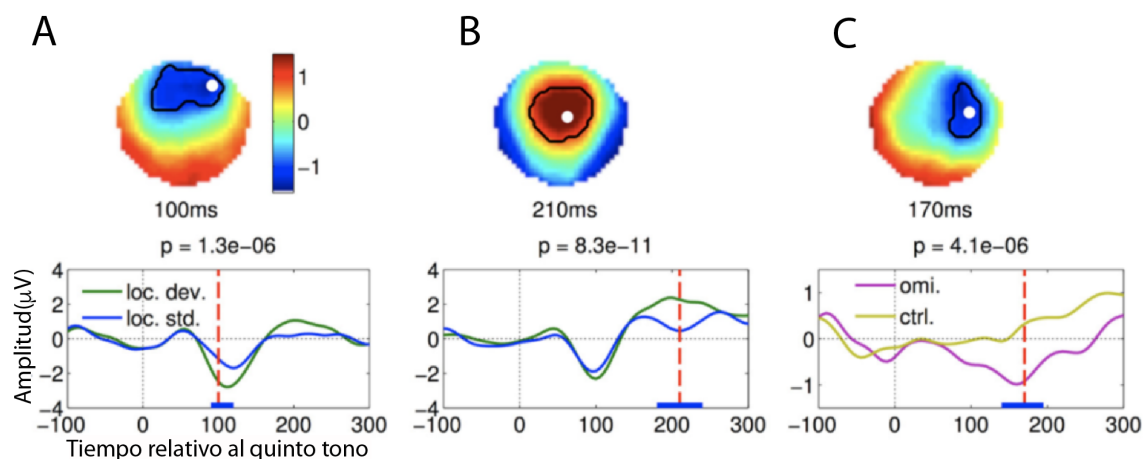


Figura 1.2 Ejemplo de efecto *mismatch* y de omisión en el humano. Este registro fue realizado utilizando EEG de superficie mediante el paradigma Global Local. En A se muestra el Efecto Local temprano generado en este paradigma por la comparación entre desviante local (AAAAB o BBBBA) vs. estándar local (AAAAA o BBBB). Arriba se muestra la topografía espaciotemporal del *cluster* en el tiempo donde el estadístico F del contraste entre el par de ERPs es máximo. El punto blanco señala la localización espacial del estadístico F máximo. En el gráfico B se muestra el Efecto Local tardío y en C se muestra la comparación de respuesta de omisión (AAAA_ o BBBB_) vs. control de omisión (AAAA o BBBB). Tomado de Chennu et al. (2016).

Capítulo 2

Objetivos generales de la tesis

El objetivo general de esta tesis es el estudio de la actividad cognitiva durante distintos estados de conciencia naturales (vigilia, sueño NREM y REM) o alterados por drogas psicotrópicas (dosis subanestésicas de ketamina, atropina y escopolamina), utilizando el gato (*Felis Silvestris Catus*) como modelo animal. Para esto utilizamos dos aproximaciones experimentales:

1. El estudio de la dinámica de la complejidad de la actividad eléctrica cerebral en todos los estados mencionados.

Para ello se analizará la CLZ de registros de la actividad cortical o electrocorticograma (ECoG), y el electrograma talámico, durante la vigilia tanto en reposo como bajo los efectos de estímulos auditivos simples, y durante el sueño.

2. El estudio de los correlatos neurales de las predicciones auditivas utilizando potenciales evocados cognitivos durante la vigilia y el sueño. Estos se estudiarán utilizando dos paradigmas de estimulación: Roving y Global Local.

Capítulo 3

Metodología general

3.1. Introducción

En este capítulo se describe la metodología utilizada que es común a todos los objetivos. Más detalles sobre los procedimientos se describen en los próximos capítulos.

Cabe destacar que para esta tesis se utilizaron datos provenientes de experimentos hechos previamente, a lo largo de varios años, así como experimentos actuales.

3.2. Animales

El gato fue utilizado como modelo animal. Este tiene ciertas ventajas experimentales comparativas comparado tanto con modelos en ratas, como con seres humanos. 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 el acceso a áreas corticales y subcorticales profundas. En cambio, en el gato se puede registrar mediante electrodos superficiales de corteza (ECoG) así como con electrodos profundos. Otra ventaja es que en el gato, a diferencia del humano, se puede elegir la localización de los electrodos implantados mientras que los registros con electrodos intracraneales en humanos

solo se pueden realizar en pacientes con epilepsia, en los cuales se implantan electrodos para localizar el foco epileptógeno, pero las localizaciones son elegidas con fines médicos y no necesariamente són útiles para contestar las preguntas experimentales.

Comparado con roedores, los gatos tienen más desarrolladas las áreas de asociación, facilitando el estudio de las funciones cognitivas. Además, la arquitectura del sueño es más similar a la del humano, con estados de sueño más prolongados, permitiendo de esta manera la ejecución de los paradigmas propuestos, que por su duración es más difícil de aplicar a roedores. Otra ventaja de este modelo animal es que es posible observar claramente las oscilaciones de alta frecuencia (como la banda gamma de frecuencias) en registros crudos de ECoG así como también los ERPs en respuesta a estímulos sonoros. Los registros de superficie en humanos (EEG) no permiten la observación directa de estas oscilaciones debido a que son filtradas por el cráneo y el cuero cabelludo y porque son enmascaradas por artefactos a esta frecuencia generados por la actividad muscular [54]. Los registros en roedores tampoco permiten la observación directa de las oscilaciones gamma con la misma claridad [81].

Para todos los experimentos de la tesis, en total se utilizaron 8 gatos adultos (rango de peso 2,5-6,5 Kg; peso promedio de 4 Kg, 6 hembras y 2 machos). Los animales fueron obtenidos y determinados en buen estado de salud por la Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación (URBE) de la Facultad de Medicina. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (8ª edición, National Academy Press, Washington DC, 2011) y fueron aprobados por las Comisiones Institucional y Nacional de Cuidado Animal de la Universidad de la República, Uruguay (Protocolo No 070153000089-17). Se tomaron las medidas adecuadas para minimizar el dolor, la incomodidad o el estrés de los animales. Además, se hicieron todos los esfuerzos para utilizar el número mínimo de animales necesarios para producir datos científicos fiables.

3.3. Procedimiento quirúrgico

Dado que los animales fueron operados en distintos años, el procedimiento anestésico fue sofisticándose con el tiempo. Se detallará el último procedimiento anestésico que se realizó con asistencia de anestesista veterinario. Previo a la cirugía, luego de realizar una venoclisis, se administró Meloxicam, (0,2 mg/kg; i.v.), así como Dexmedetomidina (3-5 μ g/Kg; i.m.), Ketamina, (2 mg/kg; i.m.) y Ceftriaxona, (30 mg/kg; i.m.). La anestesia se indujo por Propofol con bomba de infusión hasta la intubación (5 mg/kg; i.v). Esta se realizó con un laringoscopio veterinario N°2. La anestesia se mantuvo con Propofol con bomba de infusión (0,22 mg/kg/min.). La analgesia se realizó con Dexmedetomidina (0,5 a 1 μ g/kg/h) + ketamina (0,8 mg/kg/h). Se mantuvo el estado de hidratación con suero fisiológico estéril (3 ml/kg/h) y suero glucosado (3 ml/kg/h). Una vez anestesiado, la cabeza del animal se colocó en un marco estereotáxico y se expuso el cráneo. Se colocaron electrodos de tornillo de acero inoxidable (1,4 mm de diámetro) en la superficie (sobre la duramadre) de diferentes áreas corticales, incluidas las cortezas prefrontal, motora primaria, somatosensorial primaria, auditiva primaria, parietal posterior y visual. A su vez se colocaron electrodos profundos en los núcleos geniculados mediales (tálamo auditivo) y laterales (tálamo visual) (Figura 3.1). También se implantó un electrodo de referencia común ubicado en el seno frontal izquierdo. Los electrodos se conectaron a un conector Winchester, que junto con dos tubos de plástico se adhirieron al cráneo con cemento acrílico para mantener la cabeza de los animales en posición fija sin dolor ni presión. Una vez finalizada la cirugía, los animales fueron mantenidos en el laboratorio para el seguimiento de su evolución posquirúrgica. Luego de constatar su normal recuperación (24 hs) se los trasladó al bioterio donde se les administró un analgésico c/24 hs por 48 hs (Ketoprofeno, 2 mg/Kg s.c.) o más si era necesario. Los márgenes de incisión se mantuvieron limpios y se le aplicó antibiótico tópico diariamente.

Después de la recuperación de los procedimientos quirúrgicos, se adaptaron al entorno de registro durante un período de al menos 2 semanas dependiendo del proceso de cada

animal en particular. Consideramos que el animal completa su periodo de adaptación cuando experimenta episodios de sueño REM en las condiciones experimentales ya que los animales no presentan episodios de sueño REM cuando están estresados [110].

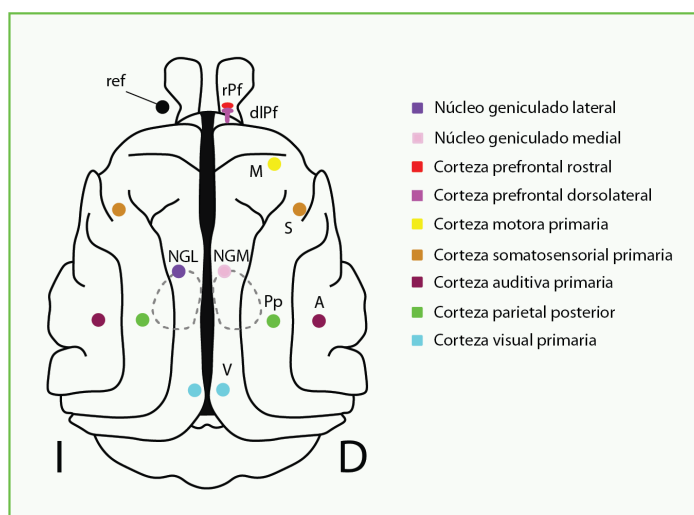


Figura 3.1 Ejemplo de la localización de los electrodos implantados en un gato. Ambos tálamos están representados en líneas de puntos. I y D indican izquierda y derecha respectivamente. ref, indica la ubicación del electrodo de referencia.

3.4. Adquisición de datos

La actividad ECoG se registró con una configuración monopolar (referencial). No se registraron las mismas cortezas en todos los animales, ya que en parte de los animales se reanalizó el ECoG de estudios previos. También se registró el EMG de los músculos nucales mediante un electrodo bipolar y el electrocardiograma (ECG), mediante electrodos colocados sobre la piel sobre la región precordial. Cada gato se registró diariamente durante aproximadamente 30 días para obtener un conjunto completo de datos.

Las señales bioeléctricas fueron amplificadas ($\times 1000$), filtradas (0,1 - 500 Hz), muestreadas (1024 Hz, 16 bits) y almacenadas en una PC usando el software Spike 2 (Cambridge Electronic Design).

Se realizaron sesiones experimentales de 4 hs entre las 11 y las 15 hs en un ambiente con temperatura controlada (21-23 °C). Durante estas sesiones (así como durante las sesiones de adaptación), la cabeza de los animales se mantuvo fija en una posición estereotáxica mediante cuatro barras de acero que se colocaron en los tubos de plástico implantados crónicamente, mientras que el cuerpo descansaba en un saco de dormir (condición semi-restringida). Es importante destacar que la condición semirestringida también es una ventaja, ya que disminuye los artefactos de movimiento, obteniéndose un registro más limpio.

Los registros se realizaron en condiciones basales y en condiciones experimentales que se explicarán más adelante.

Capítulo 4

El sueño modula la dinámica de la complejidad neural

4.1. Introducción

Cada vez hay más evidencia de una fuerte asociación entre las medidas de información neural, cómo la complejidad del EEG o ECoG y el nivel de conciencia [1, 25, 83, 114, 115, 145]. Una de las medidas de complejidad neural más estudiadas es la CLZ. Se ha demostrado una disminución en la complejidad durante la anestesia [72, 114, 145] y durante el sueño NREM en comparación con la vigilia normal. Sin embargo, se ha demostrado consistentemente que la complejidad del sueño REM está por encima del sueño NREM, aunque por debajo de la vigilia normal [1, 4, 83, 115]. El aumento de la complejidad durante la fase REM, donde ocurre la mayoría de los sueños vívidos, puede dar crédito a la hipótesis de que la complejidad no sólo puede ser modulada por el nivel de conciencia, sino que también indica el grado de contenido de la conciencia [1, 4, 83, 115]. Andrillon y col. (2016) estudiaron la CLZ en las distintas etapas de sueño en relación a una tarea de preparación motora utilizando EEG en seres humanos, pero no estudiaron las variaciones entre las cortezas ni tampoco contaban con registros intracraneales [4]. Schartner y col. (2017) y Mateos y

col. (2018) estudiaron la CLZ durante los estados de sueño en pacientes con electrodos intracraneales. La limitante en este caso es que los electrodos estaban localizados sobre todo en lóbulo frontal y temporal y no cubrían todas las regiones cerebrales por lo cual tampoco exploraron cómo se comporta la CLZ en las distintas cortezas. Abasolo y col. (2015) estudiaron la CLZ en el sueño en ratas, pero sólo analizaron la corteza frontal. La CLZ del ECoG durante el ciclo sueño-vigilia nunca fue estudiado en el gato. Estos datos revelan la necesidad de realizar un análisis exhaustivo de cómo se modula la CLZ por región cerebral, es decir si la misma dinámica se observa de forma homogénea en todas las regiones corticales y el tálamo, o por el contrario es heterogénea. A su vez, dadas las ventajas metodológicas previamente comentadas del gato como modelo animal de sueño, consideramos importante analizar la CLZ en este modelo.

4.2. Objetivo específico

Estudiar la dinámica de la CLZ del ECoG del gato durante los estados de vigilia y sueño.

4.3. Hipótesis

La CLZ reflejaría el nivel de conciencia que ocurre durante los estados fisiológicos. La CLZ en vigilia sería un poco mayor que en el sueño REM, mientras que durante este, estaría por encima del LS. El sueño NREM profundo o SWS tendría el valor de complejidad más bajo¹. Estas tendencias serían similares para distintas cortezas y núcleos talámicos.

¹Preregistrado en OSF (<https://osf.io/dvpyr>)

4.4. Metodología

4.4.1. Diseño experimental

Cinco animales se registraron diariamente hasta obtener un conjunto completo de registros durante todas las etapas de sueño (vigilia, LS, SWS, y sueño REM) (Figura 4.1). Los experimentos se realizaron en las mismas condiciones que los registros basales descritos anteriormente en el capítulo 3.

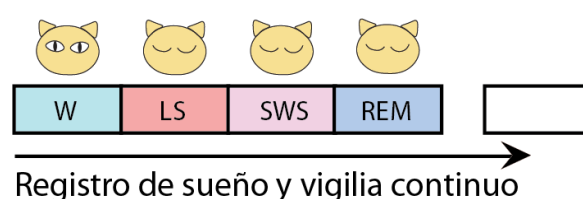


Figura 4.1 Esquema que ilustra el diseño experimental para registros electrocorticográficos durante el sueño.

4.4.2. Análisis de datos

Estadificación

Los estados de vigilia y sueño se estadificaron fuera de línea mediante inspección visual de la polisomnografía en épocas de 5 s en el *software* Spike2. Se contaba con el registro crudo del ECoG, el EMG y también con el sonograma del ECoG para facilitar la identificación de las frecuencias observadas. Dicha estadificación se realizó utilizando los siguientes criterios: vigilia, ECoG de alta frecuencia y baja amplitud, con presencia de oscilaciones gamma o theta, acompañado de actividad en el EMG; LS, presencia de husos de sueño con ausencia de ondas delta o presencia de ondas lentas de baja amplitud; SWS, predominio de ondas delta de gran amplitud; sueño REM, ECoG de alta frecuencia y baja amplitud, sin oscilaciones gamma o theta y ausencia de tono muscular en el EMG.

Complejidad de Lempel-Ziv

Después de la estadificación, se seleccionaron un total de 50 épocas sin artefactos de cada estado. Los artefactos (por ejemplo, movimientos) fueron identificados visualmente al realizar la estadificación. Se calculó la CLZ para cada época, obteniendo de esta manera un valor de CLZ por época para cada animal y sesión. Luego, las épocas seleccionadas se exportaron a Matlab para su posterior preprocesamiento. Se utilizó la caja de herramientas eeglab para filtrar los datos (paso de banda de 0,5-200 Hz).

Se calculó la CLZ, mediante el algoritmo LZ78 [71, 148], que corresponde a la implementación estándar del diccionario de palabras: dada una cadena binaria, el algoritmo la escanea secuencialmente en busca de distintas estructuras o patrones. Cuanto más diversa sea la cadena binaria, más patrones se incluirán en el diccionario (una secuencia que contenga solo ceros o solo unos conduciría a la obtención del número mínimo de patrones). El número total de estos patrones es una medida de la diversidad de la señal.

Para calcular la CLZ, los registros de cada canal se dividieron en segmentos de 5120 muestras (5 segundos muestreados a 1024 Hz). Luego, para generar una secuencia discreta a partir de una señal X de valor real de longitud T , se eliminó la tendencia de X y se binarizó con un umbral de 0, y la secuencia binaria resultante alimentó al algoritmo LZ78 (Figura 4.2). Finalmente, se normalizó sobre la longitud del diccionario resultante para producir la medida de complejidad normalizada.

Estadística

Luego, se realizó un análisis estadístico intra-sujeto e inter-sujeto. Para el análisis intra-sujeto se usó ANOVA de una vía, con la prueba *post-hoc* de Tukey para comparar la CLZ entre las etapas de sueño por corteza por animal, donde se usó la d de Cohen para medir el tamaño del efecto.

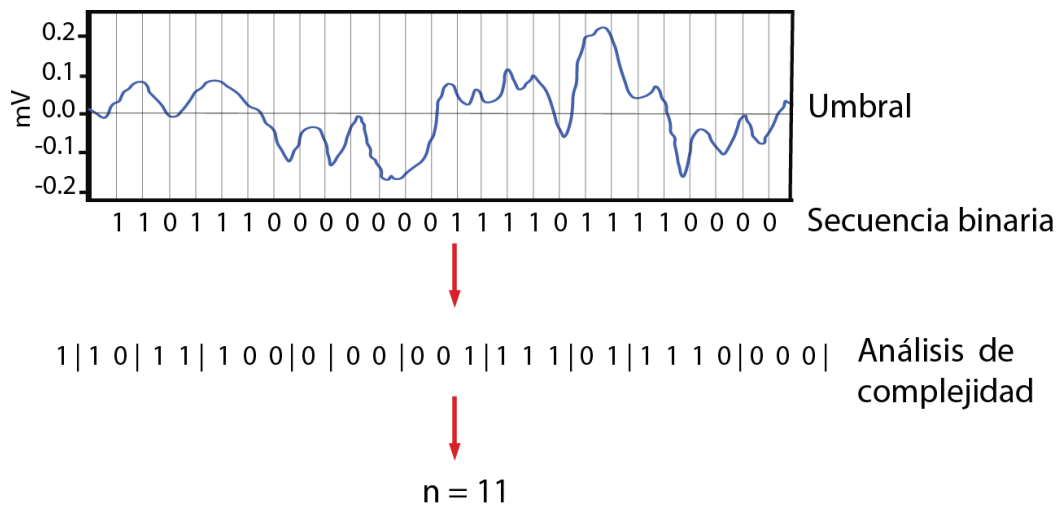


Figura 4.2 Ilustración que muestra cómo transformar un segmento de la serie de señales ECoG en una secuencia binaria y el resultado del análisis de CLZ.

Para el análisis inter-sujeto, se utilizó un enfoque multinivel, así como los Factores de Bayes (FB) para encontrar el modelo explicativo más probable dentro del modelo jerárquico en el análisis estadístico grupal comparando modelos lineales, cuadráticos y cúbicos. Se utilizó el estado de sueño como efecto fijo y la identidad del gato y las sesiones como efectos aleatorios. Todos los modelos se estimaron a través de la máxima verosimilitud restringida, utilizando los paquetes de código abierto lme4 v.1.1-21 [8] e lmerTest v.3.1-1 [63] en R v.3.6.1.

4.5. Resultados

4.5.1. La complejidad del ECoG depende del estado

Los datos se obtuvieron durante vigilia tranquila, LS, SWS y sueño REM. En la Figura 4.3 se presentan ejemplos representativos de registros crudos en dos cortezas de un gato. Como se puede apreciar en la Figura, durante la vigilia se observa un ECoG de alta frecuencia y baja amplitud, el LS se distingue por un enlentecimiento de la señal con respecto a vigilia,

la presencia de husos del sueño pero en ausencia de ondas lentas (delta) de gran amplitud, el SWS se caracteriza por ondas de baja frecuencia y gran amplitud con ondas delta y en el sueño REM nuevamente aparece un ECoG de alta frecuencia y baja amplitud con cierta similitud con la vigilia.

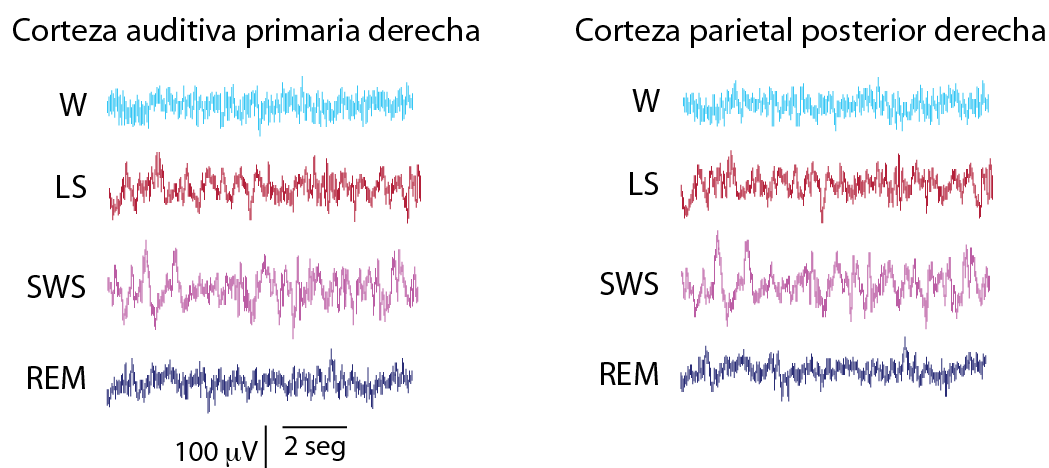


Figura 4.3 Ejemplos de registros crudos de las etapas del sueño en dos cortezas. W = vigilia, LS = sueño ligero, SWS = sueño de ondas lentas y REM = sueño REM.

Se calculó la CLZ para las diferentes etapas de sueño para todas las cortezas disponibles (Figura 4.4). Se observa que la CLZ es más alta durante la vigilia, disminuye durante el LS, alcanza su nivel mínimo durante el SWS y vuelve a subir nuevamente durante el sueño REM, excepto en la corteza somatosensorial derecha en la cual permanece con un nivel similar al SWS. A su vez, se observa que los cambios ocurren en todas las cortezas estudiadas y también en el núcleo geniculado derecho del tálamo. En la Figura 4.5 se muestran los tamaños del efecto para las diferencias entre estados por sujeto. El efecto fue consistente también para todos los animales por separado, siendo la CLZ más alta para la vigilia que para el SWS (d de Cohen $> 0,8$) para la mayoría de las cortezas. Como se predijo, los valores de CLZ fueron más altos para sueño REM y vigilia, intermedios para LS y más bajos para SWS.

Además, se formularon modelos de efectos mixtos para cada corteza, incluido el gato como efecto aleatorio cuando correspondía. A partir de entonces, la selección del modelo

se realizó entre modelos lineales y cuadráticos (forma de U) usando FB para decidir entre ajustes. Acorde con nuestra hipótesis, todas las comparaciones de modelos entre ajustes lineales y no lineales mostraron la supremacía del ajuste no lineal (Cuadro 4.1), donde el sueño REM mostró valores de complejidad más altos que el SWS, con la excepción de la corteza somatosensorial primaria derecha, donde los resultados mostraron un aplanamiento de la curva en comparación con todas las demás cortezas (Figura 4.4).

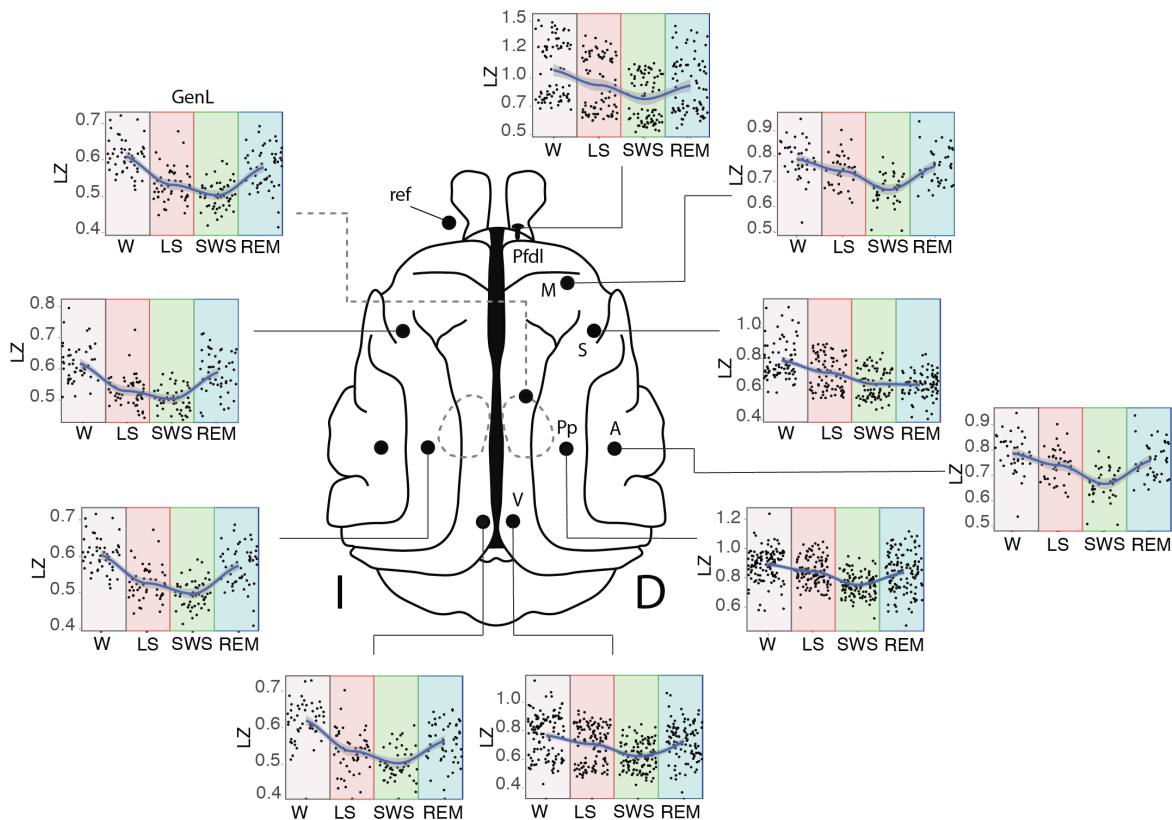


Figura 4.4 Dinámica cortical de la CLZ durante el sueño. Se utilizan representaciones esquemáticas del cerebro del gato para visualizar la dinámica diferencial de CLZ durante la vigilia y los diferentes estados de sueño. I y D indican el hemisferio izquierdo y derecho, respectivamente. W = vigilia; LS = sueño ligero; SWS = sueño de ondas lentas; REM = sueño de movimientos oculares rápidos; Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; LGen = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia.

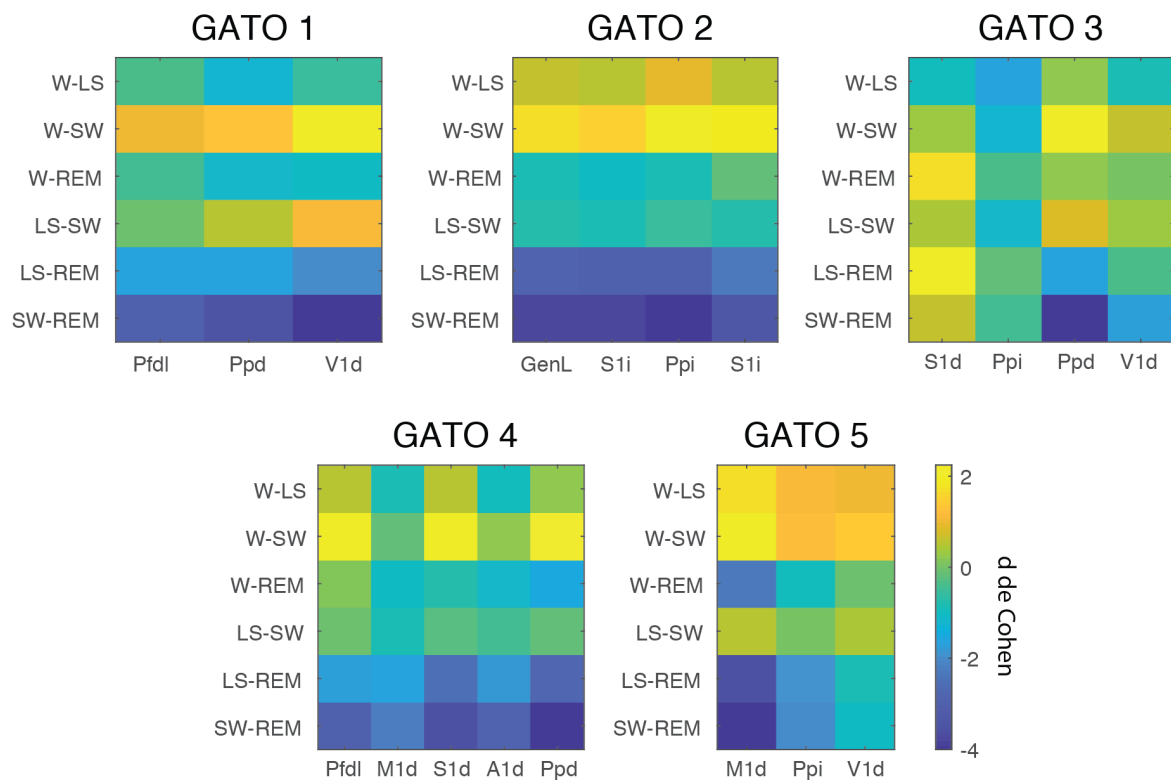


Figura 4.5 Tamaño del efecto de las diferencias en la dinámica cortical de la CLZ durante el sueño. Se muestran las diferencias en la CLZ promedio entre los estados de sueño, evaluado por ANOVA y la prueba post-hoc de Tukey. Los tamaños del efecto se calcularon mediante la d de Cohen y se representaron en una escala de colores, donde el amarillo significa una diferencia positiva y el azul significa una diferencia negativa entre los tamaños del efecto del par de estados comparados. W = vigilia; LS = sueño ligero; SWS = sueño de ondas lentas; REM = sueño de movimientos oculares rápidos; dLPf = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; LGen = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia. La “d” indica la corteza derecha y la “i” indica la corteza izquierda.

Corteza	Nº de gatos	Modelo	FB
Pfdl	2	lineal	
		cuadrático *	$6,88 \times 10^{18}$
M1d	2	lineal	
		cuadrático *	$1,90 \times 10^{17}$
A1d	1	lineal	
		cuadrático *	$4,42 \times 10^6$
S1d	2	lineal	
		cuadrático	0,681
S1i	2	lineal	
		cuadrático *	$8,53 \times 10^{20}$
Ppd	3	lineal	
		cuadrático *	$1,76 \times 10^7$
Ppi	1	lineal	
		cuadrático *	$7,19 \times 10^9$
V1d	3	lineal	
		cuadrático *	$3,70 \times 10^{11}$
V1i	1	lineal	
		cuadrático *	$3,77 \times 10^{17}$
NGLd	1	lineal	
		cuadrático *	$7,00 \times 10^{20}$

Cuadro 4.1 Selección entre modelos lineales y no lineales entre diferentes etapas del sueño para cada corteza. Se formularon modelos de efectos mixtos para cada corteza, incluyendo el gato como efecto aleatorio cuando correspondía. Se utilizó el FB para decidir entre ajustes cuadrático (en forma de U) y lineales. Con la excepción de la corteza somatosensorial primaria derecha, todas las comparaciones de modelos mostraron la supremacía del ajuste cuadrático. Los asteriscos indican evidencia sustancial de un ajuste cuadrático ($FB > 5$).

4.6. Discusión

Demostramos que la complejidad de la información en las cortezas del gato disminuye en el LS y SWS en comparación con los estados de vigilia y sueño REM. Para la mayor parte de las cortezas, solo existe una diferencia de complejidad marginal entre la vigilia y el sueño REM. Los resultados fueron consistentes entre gatos, y se observó un patrón homogéneo entre las cortezas.

Nuestros resultados son consistentes con resultados previos en humanos [4, 115, 55] y ratas [1]. Sin embargo, una lectura en más detalle muestra algunas diferencias. Andrillon et al. (2016) informaron una disminución pequeña pero confiable en la CLZ durante el sueño REM en comparación con la vigilia, posiblemente debido a que los participantes realizaron una tarea durante este estado, mientras que los participantes en el estudio de Scharfner et al. (2017) estaban simplemente en reposo con los ojos cerrados y no comprometidos o impulsados externamente por tareas o estímulos. Una acotación importante es que existe evidencia que muestra que la CLZ es sensible a la realización de tareas [55], y también se relaciona con la demanda cognitiva [119]. Esto también lo sitúa como un marcador inespecífico que es modulado fuertemente por los estados de conciencia pero también es capaz de captar otros fenómenos cognitivos.

Por otro lado, según observaron Andrillon y col. (2011) y Nir y col. (2011), existen diferencias significativas en la electrofisiología del sueño NREM entre los lóbulos corticales, específicamente en la dirección de propagación de las ondas lentas y las frecuencias de los husos del sueño. Sin embargo, al comparar diferentes regiones en términos de la magnitud de la diferencia en complejidad entre vigilia y sueño NREM, Andrillon y col. no encontraron diferencias entre las regiones. Esto se debe probablemente a que los valores de las medidas de complejidad que realizaron son promedios entre canales y segmentos, y por lo tanto son sensibles a las propiedades de estado estable y no a eventos transitorios como los husos. Por

el contrario, en este trabajo realizamos el cálculo de la CLZ por cada canal por separado, por lo cual es más sensible a cambios entre cortezas.

A diferencia de trabajos previos observamos una mayor variabilidad en la complejidad durante el sueño REM, donde en algunas cortezas la CLZ era similar a la vigilia mientras que en otras era similar a LS o SWS [1, 4, 83, 115]. El patrón de complejidad fue similar a las tendencias corticales en el núcleo geniculado lateral (Figura 4.4), posiblemente debido a que el tálamo funciona en íntima relación con la corteza. Este es el primer reporte en la bibliografía que aborda los cambios de CLZ durante el sueño en el tálamo.

Los cambios de CLZ durante el sueño son robustos y consistentes con los trabajos previos [1, 4, 83, 115] y su variación es acorde al nivel de conciencia para las etapas de sueño.

4.6.1. Consideraciones técnicas

Nótese que en los cinco animales no todas las áreas analizadas coinciden. Esto es porque dichos animales fueron implantados para distintos experimentos. En este trabajo utilizamos toda la información disponible, aunque el análisis en algunas áreas se realizó con un menor número de animales. Estas consideraciones técnicas también se aplican para los capítulos siguientes.

4.7. Conclusiones

En este trabajo demostramos que la complejidad tanto del ECoG de distintas áreas neocorticales, como el electrograma del tálamo visual, es profundamente afectado por el sueño. Esta disminuye durante el LS, disminuye aún más durante el SWS, mientras que los valores durante el sueño REM son similares a la vigilia. Estos resultados confirman en el gato, hallazgos previos en humanos y roedores.²

²Estos resultados ya fueron publicados (ver apéndice).

Capítulo 5

Modulación de la complejidad electrocortical por ketamina

5.1. Introducción

Recientemente se ha asociado el nivel de CLZ con la magnitud de los contenidos presentes en un estado consciente. Este concepto proviene de trabajos en humanos que mostraron una mayor CLZ bajo el efecto de psicodélicos como dietilamida del ácido lisérgico (LSD), psilocibina y dosis subanestésicas de ketamina, en comparación con placebo [72, 85, 115]. Estas drogas tienen efectos profundos y generalizados en las experiencias conscientes, generadas tanto interna como externamente. Se sostiene que extienden el alcance de los contenidos conscientes, vivificando la imaginación y modulando positivamente la flexibilidad de la cognición [22, 21]. Con respecto a la ketamina en dosis subanestésica se reportó un mayor nivel de complejidad en señales espontáneas de EEG del cuero cabelludo de alta densidad en voluntarios sanos, pero no se observó ningún aumento cuando se estimula con estímulos auditivos [41, 72].

A pesar de estos antecedentes, quedan preguntas importantes sin responder. Para una comprensión más completa de los efectos psicoactivos de la ketamina, se requiere una inves-

tigación sistemática de los efectos dependientes de la dosis de la ketamina en la complejidad cortical.

5.2. Objetivos específicos

1) Estudiar cómo es modulada la CLZ del ECoG por la ketamina, a diferentes dosis subanestésicas.

2) Evaluar cómo es modulada la CLZ del ECoG con y sin ketamina, por la estimulación auditiva.

5.3. Hipótesis

H1: la CLZ aumenta luego de la dosis más baja de ketamina subanestésica en comparación con la vigilia y disminuye con las dosis mayores, siguiendo un patrón de U invertida¹.

H2.1: el nivel de complejidad será mayor bajo estimulación auditiva que en condiciones control, tanto en vigilia como bajo el efecto de ketamina¹.

H2.2: el aumento de la complejidad inducido por la estimulación sería más evidente bajo el efecto de la ketamina. Esta última hipótesis está en línea con la teoría del cerebro entrópico, asumiendo que bajo los psicodélicos la diversidad de estados mentales aumenta y la experiencia producida por un estímulo es amplificada por el cerebro bajo este estado [22, 21]¹.

¹Preregistrado en OSF (<https://osf.io/dvpyr>)

5.4. Metodología

5.4.1. Diseño experimental

Cinco, 10 y 15 mg/kg i.m. de ketamina (solución para uso veterinario, 50 mg/ml; Ketonal®, Richmond Veterinaria S.A.) se administraron a cinco animales. Estas tres dosis se administraron a cada animal, cada una en 4 sesiones experimentales realizadas en diferentes días en un orden contrabalanceado. El esquema ilustrado en la figura 5.1 corresponde a una sesión, en la que se administró un sólo bolo de ketamina. En cada sesión, el animal se registró en condiciones de reposo durante unos 30 minutos y luego se inyectó el bolo de ketamina. Después de eso, el registro continuó durante 4 horas. Diez minutos luego de la inyección, el gato recibió estimulación auditiva (en 3 de los 5 gatos). Las diferentes dosis de ketamina se administraron en días diferentes dejando 3 o 4 días entre ellas. En cada sesión se repitió todo el experimento ilustrado en la figura 5.1, por lo que en total se repitieron los experimentos 12 veces (4 por dosis). Se usaron registros basales (sin inyecciones) como control.

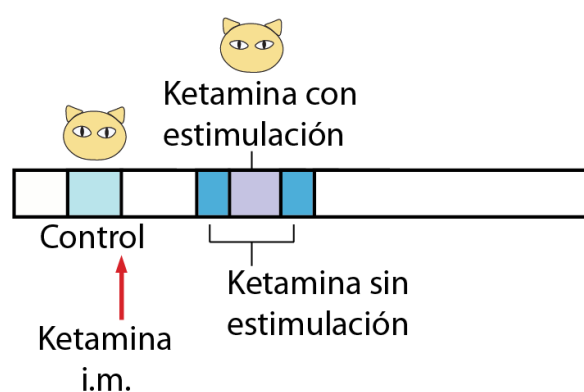


Figura 5.1 Esquema que ilustra el diseño experimental para registros polisomnográficos antes y después de las diferentes dosis de ketamina. i.m.

Se presentaron estímulos sonoros aproximadamente 30 minutos después del comienzo de las sesiones de registro en condiciones libres de drogas o 10 minutos después de la inyección de ketamina en 3 animales. Estos estímulos sonoros tenían las mismas características que los utilizados para inducir vigilia alerta en trabajos previos de nuestro laboratorio [24]. Los

estímulos consistieron en pulsos cuadrados producidos con un estimulador conectado a un parlante que los emitía como clics. Los estímulos sonoros (clics de 1 ms de duración) se presentaron durante un período de 300 s y presentaron 60-100 dB SPL, y frecuencia de presentación variable (1-500 Hz) [24, 133].

5.4.2. Análisis de datos

Para calcular la CLZ, se tomaron 50 ventanas de 5 s antes y después de la administración de ketamina por registro y por animal. Se tomaron 50 ventanas durante la estimulación, y las ventanas sin estimulación se dividieron en 25 antes y 25 después del periodo de estimulación como se esquematiza en la figura 5.1.

Para el análisis estadístico, al igual que para el estudio de sueño, se utilizó un enfoque multinivel, así como los FB para encontrar el modelo explicativo más probable dentro del modelo jerárquico en el análisis estadístico grupal comparando modelos lineales, cuadráticos y cúbicos. Se utilizó la dosis de ketamina como efecto fijo, mientras que la identidad del gato y las sesiones se utilizaron como efectos aleatorios.

5.5. Resultados

5.5.1. La ketamina modula la complejidad en forma diferente en las distintas cortezas

En la figura 5.2 se muestran registros crudos representativos de un animal luego de las distintas dosis de ketamina. Se observa un ECoG activado y la presencia de ondas lentas con un fondo de activación con una dosis de ketamina de 15 mg/Kg.

El análisis de la CLZ mostró una importante variabilidad entre las dosis de ketamina y entre las distintas cortezas (Figura 5.3A). En las cortezas prefrontal rostral y dorsolateral derechas, así como en la corteza auditiva primaria derecha las dosis menores de ketamina pro-

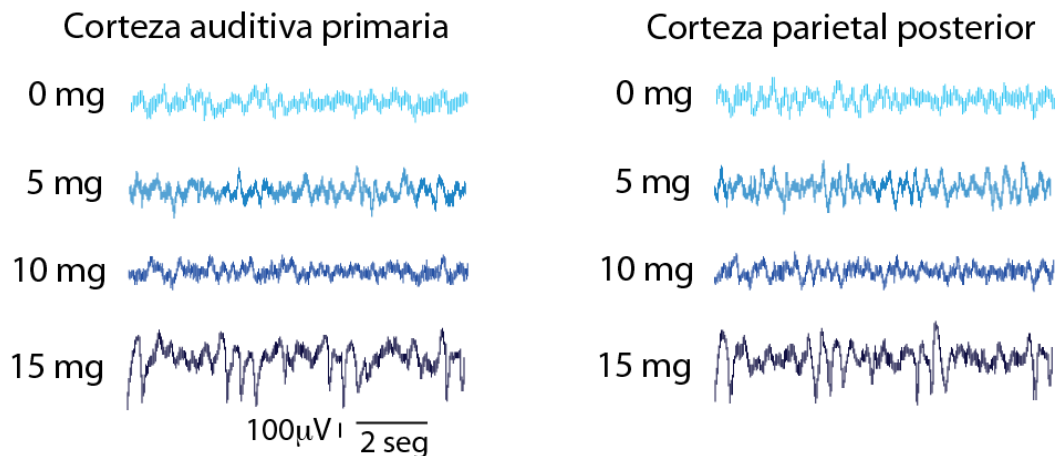


Figura 5.2 Registros electrocorticográficos de las diferentes dosis subanestésicas de ketamina en dos cortezas representativas.

dujeron un aumento de la CLZ seguida de una disminución con la dosis más alta, mostrando una relación en forma de U invertida ($FB = 1,70 \times 10^{14}$, $FB = 2,57 \times 10^5$, $FB = 8,25 \times 10^9$, para cada corteza respectivamente).

Sin embargo, cuando observamos el efecto individual por corteza en cada animal, se puede ver que la relación en forma de U invertida no es sistemática entre gatos y está presente sólo en las cortezas de 2 de los 5 gatos (Figura 5.3 B). Por otro lado, se obtuvo una curva opuesta para las cortezas somatosensorial y parietal posterior. Finalmente, para la corteza visual los efectos fueron menos consistentes entre los gatos (Figura 5.3 B).

Al igual que en el capítulo anterior, estudiamos los efectos de la ketamina en la CLZ mediante el ajuste de modelos mixtos individuales para cada corteza. La selección del modelo se realizó en este caso entre modelos lineales, cuadráticos y cúbicos utilizando FB (Cuadro 5.1). Se encontró una evidencia sustancial a favor del ajuste cuadrático para las cortezas prefrontal dorsolateral y rostral derechas, la corteza auditiva primaria derecha y la corteza parietal posterior izquierda. Para el resto de las cortezas no hubo evidencia suficiente a favor de un modelo o el otro.

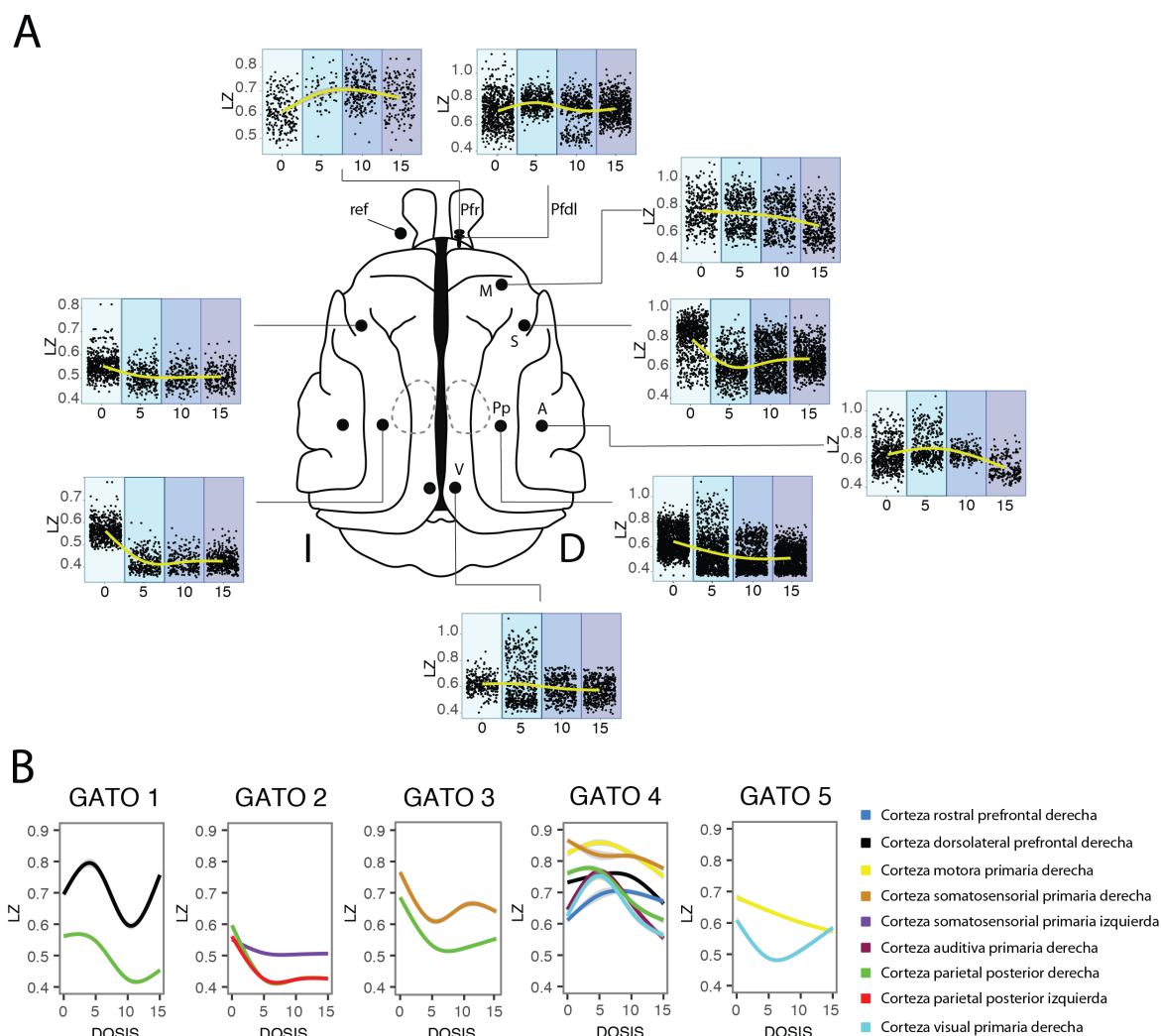


Figura 5.3 Curvas dosis-respuesta de la dinámica cortical de CLZ en función de la dosis de ketamina. (A) Curva dosis-respuesta de dosis subanestésicas de ketamina, mostrando una curva en forma de U invertida solo para las cortezas prefrontal y auditiva, con disminución monotonía de la complejidad con la concentración para las otras cortezas. Cada gráfico representa la suma de las diferentes sesiones para cada dosis de los diferentes gatos que tienen esa corteza, por lo tanto el número de gatos es diferente por corteza. (B) Las curvas se trazan por gato. Se puede ver claramente que la variabilidad en la dinámica de la complejidad de información por corteza y por gato se evidencia más claramente cuando se grafica individualmente, y muestra que existe una disociación de la dosis-respuesta y la localización anatómica. Las dosis están representadas en mg/Kg. rPf, corteza prefrontal rostral; dlPf, corteza prefrontal dorsolateral; M, corteza motora primaria; S, corteza somatosensorial primaria; A, corteza auditiva primaria, Pp, corteza parietal posterior; V, corteza visual. I indica el lado izquierdo y D el lado derecho.

Corteza	Nº de gatos	Modelo	FB
Pfdl	2	lineal	
		cuadrático *	$2,57 \times 10^5$
		cúbico	288,73
Pfr	1	lineal	
		cuadrático *	$1,70 \times 10^{14}$
M1d	2	lineal	
		cuadrático	0,04
A1d	2	lineal	
		cuadrático *	$8,25 \times 10^9$
S1d	3	lineal	
		cuadrático	$3,0 \times 10^{-3}$
		cúbico	0,66
S1i	1	lineal	
		cuadrático	1,08
Ppd	4	lineal	
		cuadrático	$1,13 \times 10^{-4}$
Ppi	2	lineal	
		cuadrático *	46057,12
V1d	2	lineal	
		cuadrático	1,28
		cúbico	$3,0 \times 10^{-3}$

Cuadro 5.1 Selección entre modelos lineales y no lineales entre diferentes dosis de ketamina para cada corteza. Se formularon modelos de efectos mixtos para cada corteza, incluido el gato como efecto aleatorio cuando correspondía. Se utilizaron FB para decidir entre ajustes cuadráticos (en forma de U), cúbicos y lineales. Los asteriscos indican evidencia sustancial de un ajuste cuadrático ($FB > 5$).

5.5.2. Los estímulos auditivos no alteran la complejidad del ECoG bajo los efectos de la ketamina

En 3 gatos se estudió la modulación de la CLZ por estímulos auditivos. Bajo condiciones de control sin ketamina (en vigilia), se observó un aumento en la CLZ durante la estimulación en la corteza prefrontal dorsolateral y auditiva, mientras que el efecto sobre otras cortezas estudiadas no fue significativo según el FB (Cuadro 5.2, Figura 5.4A).

Corteza	Sin estímulo	Con estímulo	valor p	η^2	FB
Pfdl	$0,66 \pm 0,04$	$0,70 \pm 0,007$	$< 0,01$	0,044	10619,07
A1d	$0,63 \pm 0,05$	$0,66 \pm 0,007$	$< 0,01$	0,035	75,27
Ppd	$0,53 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,001$	$< 0,01$	0,008	$7,0 \times 10^{-5}$
S1d	$0,62 \pm 0,05$	$0,62 \pm 0,002$	0,61	0,005	$1,0 \times 10^{-4}$
S1i	$0,52 \pm 0,005$	$0,53 \pm 0,002$	$< 0,01$	0,002	0,09
Ppi	$0,47 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,001$	0,85	0,001	$1,0 \times 10^{-4}$

Cuadro 5.2 Estadística de la modulación de la complejidad de la información por estimulación. Pfdl, corteza prefrontal dorsolateral; S, corteza somatosensorial primaria; A, corteza auditiva primaria, Pp, corteza parietal posterior; V, corteza visual. “i” indica el lado izquierdo y “d” el lado derecho.

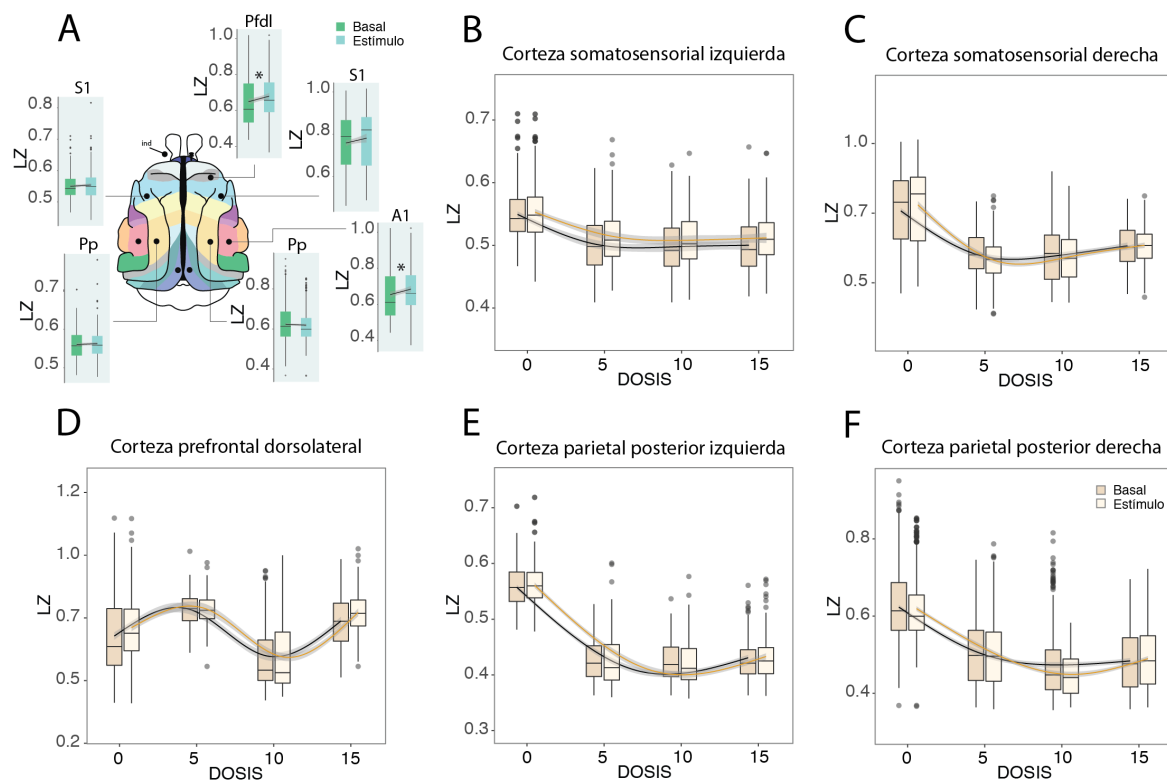


Figura 5.4 Modulación de la CLZ por estimulación auditiva. (A) En condiciones control, durante la vigilia, se observó un aumento en la CLZ durante la estimulación en las cortezas prefrontal dorsolateral y auditiva. * Estadísticamente significativo ($p < 0,01$ y $FB > 5$). Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; S1= corteza somatosensorial primaria; A1= corteza auditiva primaria. (B-F) Modulación por estimulación bajo el efecto de ketamina en dosis de 5, 10 y 15 mg/Kg. No se observó un efecto de la estimulación auditiva en la CLZ bajo ninguna de las dosis de ketamina. Las dosis están representadas en mg/Kg.

Para la corteza prefrontal, el incremento en la CLZ del ECoG que se observó bajo condiciones control en respuesta a la estimulación auditiva, continuó sin cambios bajo el efecto de ketamina, sin interacción significativa. Para el resto de las cortezas no se observaron cambios significativos en respuesta a la estimulación durante el efecto de la ketamina, ni tampoco hubo interacción entre la ketamina y la estimulación (Cuadro 5.3).

Corteza	Efecto Ketamina		Interacción	
	valor p	FB	valor p	FB
Pfdl	$9,4 \times 10^{-8}$	335,92	0,51	$2,5 \times 10^{-8}$
S1d	0,64	$1,5 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-3}$	0,012
S1i	3×10^{-4}	0,09	0,16	$3,5 \times 10^{-4}$
Ppd	0,46	$7,4 \times 10^{-5}$	8×10^{-3}	8×10^{-3}
Ppi	0,85	$1,2 \times 10^{-4}$	0,74	$2,5 \times 10^{-6}$

Cuadro 5.3 Estadística de la modulación de la CLZ del ECoG por estimulación. Pfdl, corteza prefrontal dorsolateral; S, corteza somatosensorial primaria; A, corteza auditiva primaria, Pp, corteza parietal posterior; V, corteza visual. “i” indica el lado izquierdo y “d” el lado derecho.

5.6. Discusión

En este trabajo demostramos que el efecto de la ketamina sobre la complejidad del ECoG del gato es dependiente de la dosis y de la corteza estudiada. Con dosis más bajas e intermedias (5 y 10 mg/Kg), se observó un aumento de la CLZ en cortezas prefrontal dorsolateral, motora primaria derecha y auditiva, mientras que una disminución es observada en las demás cortezas. Sin embargo, para las dosis mayores de ketamina (15 mg/Kg), el efecto es una disminución homogénea de la CLZ en casi todas las cortezas estudiadas. Por último, también estudiamos cómo es modulada la complejidad bajo ketamina con estimulación auditiva, y encontramos que en condiciones control sin ketamina (durante la vigilia), se observa un aumento con la estimulación, pero este efecto se mantiene incambiado bajo el efecto de la ketamina.

Un aspecto importante es que existe una clara variabilidad de la CLZ entre los distintos animales y la dosis utilizada. También hay variaciones marcadas entre las áreas estudiadas. Por ejemplo, para la corteza visual primaria derecha la complejidad aumenta con las dosis de 5 mg de ketamina en el gato 4 pero disminuye en el gato 5. Otro ejemplo es la corteza motora primaria derecha en la cual en el gato 4 aumenta la complejidad mientras que en el gato 5 disminuye luego de la administración de 5 mg de ketamina. Estas diferencias podrían deberse a las diferencias de sexo y el contenido de grasa corporal entre animales, que puede afectar la farmacodinámica de la ketamina.

5.6.1. La complejidad de la señal es modulada bajo dosis subanestésicas de ketamina

Las medidas de complejidad de señales neurales son sensibles al nivel consciente en los cambios de estado natural (el ciclo de sueño-vigilia), y también son sensibles a los cambios en la dinámica cerebral asociada con los estados psicodélicos y anestésicos. En concreto, Schartner et al. (2017) encontraron una mayor complejidad de señales neurales globales para el estado psicodélico inducido por la ketamina, la psilocibina y el LSD, en comparación con el placebo, en una variedad de medidas [115]. Otros estudios recientes de MEG y EEG también han demostrado una complejidad de señales elevada inducida por psicodélicos serotoninérgicos canónicos y ketamina [121, 122]. Desde la perspectiva de sus efectos sobre la complejidad de señales del EEG, la ketamina, un antagonista de receptores NMDA, difiere de los anestésicos tradicionales en concentraciones subanestésicas, ya que induce estados disociativos caracterizados por un mayor repertorio de estados cerebrales [72, 115]. Esto contrasta con los anestésicos GABAérgicos como el propofol, que se ha demostrado que interrumpen la integración sensorial y atenúan la complejidad de señales neurales de manera dependiente de la dosis [42, 43, 58]. Si bien esos estudios se basaron en señales de EEG que habían sido filtradas con un filtro pasa bajo a 55 Hz y por lo tanto carecían de dinámica

cortical en frecuencias gamma más altas, Pal et al. (2020) han demostrado recientemente que esta parte de la señal es importante. Utilizando datos de EEG intracraneal de las cortezas frontal y parietal de ratas que recibieron anestesia con ketamina o propofol, demostraron una reducción en la complejidad del EEG de banda ancha (0,5-175 Hz) durante la anestesia con ketamina que es comparable a la inducida por el anestésico GABAérgico propofol. Los análisis específicos de ancho de banda restringidos a frecuencias gamma más altas mostraron que la anestesia con ketamina se distingue del propofol por la supresión de la complejidad del EEG en frecuencias gamma altas en el rango de 65 a 175 Hz, que estudios previos en humanos que utilizaron EEG del cuero cabelludo no pudieron revelar [99]. En el presente estudio, mediante el uso de electrodos intracraneales en gatos, pudimos estudiar la complejidad de la señal de banda ancha (0,5-200 Hz).

5.6.2. Mecanismo de acción de la ketamina; hipótesis interpretativa de la heterogeneidad en la CLZ cortical

Nuestros resultados muestran que la CLZ a nivel cortical bajo dosis sub-anestésicas de ketamina es heterogénea. Proponemos 4 hipótesis para explicar este efecto: la heterogeneidad de los subtipos de receptores de NMDA; la interacción con los receptores opiodes y HCN; la acción indirecta de ketamina; y la reducción en la entrada de información somatosensorial. Si observamos por ejemplo la dosis de 10 mg/Kg, la CLZ del ECoG aumenta en las cortezas prefrontales y auditiva primaria, mientras que en otras cortezas disminuye. Una posible explicación es debida a la distribución diferencial de los receptores a los que se une la ketamina en las distintas áreas. El principal mecanismo de acción de la ketamina es como un antagonista de NMDA cuyos receptores están ubicados de manera bastante ubicua en la corteza cerebral, así como en áreas subcorticales [30, 57]. Una interacción diferencial con varios subtipos de receptores NMDA podría explicar la heterogeneidad en la respuesta cortical bajo los efectos de la ketamina [144].

Otra hipótesis alternativa para explicar dicha heterogeneidad es que los efectos sobre la CLZ observados se deban a la interacción de la ketamina con receptores no NMDA, en particular con los receptores opioides y los canales activados por nucleótidos cíclicos (HCN) activados por hiperpolarización [26, 144, 147].

Además, la ketamina puede ejercer efectos indirectos a través de su interacción con otros circuitos. Trabajos previos informaron que las dosis subanestésicas de ketamina aumentaron la liberación no solo de 5-hidroxitriptamina (5-HT) [3, 80, 77], sino también de noradrenalina [78], así como glutamato [87] en la corteza prefrontal medial, lo que podría estar en la base del aumento de la complejidad de la señal en esa región. A nivel de los receptores, la ketamina bloquea los receptores NMDA excitadores en las interneuronas corticales de disparo rápido con mayor eficacia que en las neuronas piramidales. Esto da como resultado una regulación a la baja de la actividad de las interneuronas y una disminución de la liberación de ácido gamma aminobutírico (GABA) en la sinapsis de la neurona piramidal entre las interneuronas [56, 118]. Esta disminución del tono inhibitorio (disminución de la liberación de GABA) da como resultado neuronas piramidales marcadamente excitadas. Se ha propuesto que esto puede explicar por qué la ketamina se asocia con una mayor utilización de glucosa cerebral y flujo sanguíneo [67, 66] y un aumento de las oscilaciones gamma del EEG [11, 25, 44, 70, 116] y también puede ayudarnos a entender los cambios observados en la complejidad de la señal los cuales son heterogéneos.

Otra hipótesis, es que la heterogeneidad se explique por la reducción en la entrada de información somatosensorial. Nuestros resultados muestran una disminución de la CLZ en las cortezas parietal posterior y somatosensorial después de la administración de ketamina (Figura 5.3). Dado que ambas cortezas procesan información somatosensorial, nuestros resultados pueden deberse a una reducción en la entrada de información somatosensorial, ya que uno de los principales efectos de las dosis subanestésicas de ketamina es la analgesia [144].

Por último, es interesante destacar que la heterogeneidad se observa con las dosis de 5 y 10 mg/Kg de ketamina, y que cuando se administraron 15 mg/Kg de ketamina la CLZ disminuye homogéneamente en todas las áreas estudiadas. Esto coincide con la presencia de ondas lentas en la señal, lo cual podría estar en la base de la disminución de la complejidad. Es posible que al ser una dosis más cercana a las dosis anestésicas, la complejidad se empiece a parecer más a la observada en el estado anestesiado.

5.6.3. Complejidad y teorías sobre la conciencia

La CLZ es una medida atractiva debido a su simplicidad y aplicabilidad práctica para medir el nivel de conciencia [129, 128]. La hipótesis del cerebro entrópico predice un aumento global de la entropía cerebral [22, 20]. Si bien nosotros medimos CLZ y no entropía, estos se correlacionan al medir los estados de conciencia [82]. Nuestros resultados no van del todo acorde a dicha hipótesis ya que muestran un aumento regional de la CLZ en corteza prefrontal bajo el efecto de bajas dosis de ketamina subanestésicas mientras que en otras cortezas, así como en dosis mayores, la complejidad disminuye.

La medida también es útil en lo referente a procesamiento local, ya que se calcula a nivel de electrodo, por lo que pudo demostrar efectos diferenciales en distintas regiones talámicas y corticales del cerebro. De hecho, según la hipótesis del núcleo dinámico [129] y desarrollos teóricos posteriores como la IIT [128], solo ciertos subconjuntos distribuidos de los grupos neuronales que se activan o desactivan en respuesta a una determinada tarea están asociados con la experiencia consciente, por lo tanto, un gran grupo de subgrupos neuronales que juntos constituyen, en una escala de tiempo de cientos de milisegundos, un proceso neuronal unificado de alta complejidad puede denominarse el “núcleo dinámico”. En línea con esta idea, y observando los resultados del experimento donde estimulamos a los gatos con sonidos mientras estaban en estado de vigilia y observamos un aumento de la CLZ en las cortezas auditiva y prefrontal dorsolateral, nuestros resultados podrían interpretarse

como que dichas cortezas podrían estar constituyendo una parte del “núcleo dinámico”, y las cortezas somatosensorial y parietal posterior jugando un papel importante pero diferente en la integración neuronal durante esta tarea. La limitación central de esta interpretación es que los gatos no están realizando la tarea de forma activa sino que escuchan los sonidos de forma pasiva.

5.6.4. Estimulación auditiva y ketamina

En este trabajo también estudiamos la modulación de la CLZ por estímulos auditivos. Bajo condiciones de control sin ketamina (vigilia), se observó un aumento en la CLZ durante la estimulación en la corteza prefrontal dorsolateral y auditiva. Inicialmente planteamos la hipótesis de que el incremento de complejidad bajo las condiciones de estimulación sensorial frente a las de no estimulación sería más evidente bajo el efecto de la ketamina. Sin embargo, dichos estímulos no modularon la CLZ del ECoG bajo el efecto de ketamina.

Hallazgos recientes de Mediano et al. (2020) proporcionan una sólida evidencia cuantitativa sobre cómo las condiciones ambientales tienen una influencia sustancial en la dinámica neural durante una experiencia psicodélica en humanos. Este trabajo mostró cómo la CLZ cerebral de registros de MEG es modulada por la manipulación de estímulos durante una experiencia psicodélica bajo los efectos de LSD o placebo, ya sea con ojos cerrados o abiertos o diferentes estímulos (sin estímulo, música o video). Los resultados mostraron que, si bien la CLZ cerebral aumentó con LSD en todas las condiciones experimentales, exhibió los cambios más grandes cuando los sujetos tenían los ojos cerrados, mientras que los efectos de aumento de la CLZ del LSD fueron menos marcados cuando los participantes abrieron los ojos o percibieron estímulos externos, como música o video [85]. En el presente trabajo estudiamos los efectos de la estimulación auditiva sobre la CLZ del ECoG, en condiciones basales y bajo dosis crecientes de ketamina. Nuestra hipótesis fue que la estimulación sonora produciría un mayor nivel de complejidad. Sin embargo, solo se evidenció un ligero aumento

en la CLZ durante la estimulación en las cortezas prefrontal dorsolateral y auditiva en condiciones control (sin ketamina). Por otra parte, no hubo efecto o este fue muy débil cuando los animales fueron tratados con ketamina (Figura 5.4). Este efecto débil en situaciones control, o inexistente bajo ketamina, podría explicarse en parte por la baja relevancia del estímulo, ya que no logró captar la atención de los animales, en comparación con estímulos extremadamente destacados o significativos, como la música o el video. En línea con ello, Nilsen y col. [90] no pudieron demostrar una influencia de la atención en la CLZ después de la estimulación.

5.7. Conclusiones

Nuestros hallazgos revelan que la respuesta de la corteza cerebral del gato a la ketamina es altamente dependiente de la dosis administrada. Las dosis más bajas e intermedias inducen un aumento selectivo en la complejidad en ciertas áreas corticales, con una curva de dosis-respuesta en forma de U invertida, mientras que dosis más altas producen una disminución uniforme en todas las regiones analizadas.

Por otra parte, se observó un aumento de la CLZ en respuesta a la estimulación auditiva en condiciones basales (sin ketamina), aunque no es consistente en todas las cortezas. Sin embargo, la estimulación auditiva no altera la complejidad del ECoG en los animales tratados con ketamina ².

²Estos resultados ya fueron publicados (ver apéndice)

Capítulo 6

La escopolamina y atropina alteran la complejidad electrocortical

6.1. Introducción

Un determinante importante en el control de los estados de vigilancia es el sistema colinérgico [131]. Las neuronas colinérgicas mesopontinas y del prosencéfalo basal controlan los estados conductuales y las funciones cognitivas. A su vez, se ha demostrado que las neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal degeneran en la enfermedad de Alzheimer [49].

Los antagonistas de los receptores muscarínicos generan un estado alterado de conciencia en seres humanos. Dichas drogas inducen un estado en el cual la persona permanece despierta, pero su nivel de conciencia se ve afectado produciendo alteraciones en la percepción del tiempo y del espacio, ilusiones y alucinaciones visuales y auditivas, pérdida de la capacidad para prestar atención, seguir instrucciones, hablar coherentemente o interpretar los estímulos de manera correcta, amnesia temporal y alteraciones en el juicio [95, 113, 65, 51, 31, 61].

Los animales tratados con antagonistas de los receptores muscarínicos colinérgicos muestran un estado disociado caracterizado por vigilia conductual, asociado con oscilaciones lentas de alta amplitud y husos en el EEG, similares a los que ocurren durante el sueño NREM

[137]. Esta disociación en la que el comportamiento de vigilia coexiste con un EEG similar al sueño NREM se observó en gatos, perros, ratas y conejos [137, 106, 141, 73]. Los resultados de nuestro grupo evidenciaron que tras la administración de atropina y escopolamina en gatos, se produce un gran aumento en la potencia y coherencia gamma, que fueron equivalentes en nivel a los observados durante la vigilia alerta [25]. En este trabajo también se muestra que la atropina y la escopolamina se diferencian en el inicio de acción a nivel cerebral, siendo más rápido el de la escopolamina, dado que ésta atraviesa más fácilmente la barrera hematoencefálica. A pesar de ello, una vez comenzado el efecto a nivel cerebral los efectos sobre la potencia y coherencia son similares para ambas drogas [25].

Como ya mencionamos anteriormente, una medida validada para medir el estado de conciencia es la CLZ. Sin embargo, no se ha estudiado hasta la fecha cómo se modifica la complejidad del ECoG y del electrograma de los núcleos geniculados del tálamo bajo el efecto de drogas anticolinérgicas.

6.2. Objetivo específico

Estudiar cómo es modulada la CLZ del ECoG y del electrograma de los núcleos geniculados del tálamo por atropina y escopolamina.

6.3. Hipótesis

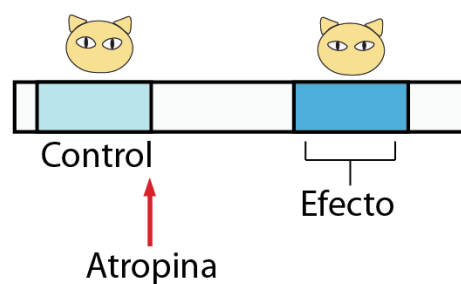
Con respecto a la vigilia, la CLZ disminuye bajo el efecto de atropina y escopolamina. Esta hipótesis se basa en que la atropina y escopolamina a altas dosis generan alteraciones cognitivas acompañadas de ondas lentas en el ECoG, que revelan una actividad neural predecible. Este estado cognitivo más simple con capacidades reducidas generaría una disminución de la complejidad neural global.

6.4. Metodología

Para el caso de la atropina se utilizaron 5 animales y se administró una dosis de 0.4 mg/kg s/c (Sigma). Para el caso de la escopolamina se realizó el experimento en 3 animales y se usó una dosis de 1 mg/kg s/c (Sigma). Para estos fármacos no se realizaron curvas dosis respuesta, porque el interés principal era estudiar su efecto a altas dosis, que son dosis en las cuales los anticolinérgicos generan un efecto disociativo.

Al igual que los experimentos descritos para ketamina, los registros fueron de 4 hs de duración. Se realizaron entre 1 y 4 repeticiones de cada sesión, dependiendo del animal utilizado. El diseño experimental se esquematiza en la figura 6.1.

A) Atropina



B) Escopolamina

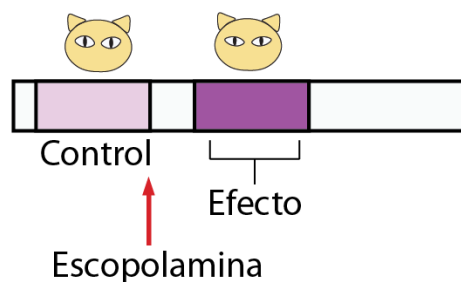


Figura 6.1 Esquema que ilustra el diseño experimental para registros electrocorticográficos para la administración de atropina (A) y escopolamina (B).

El análisis de la CLZ, al igual que para el experimento con ketamina, se realizó en 50 ventanas de 5 s. Las ventanas se tomaron 30 minutos después de la inyección para el caso de la escopolamina, y 90 min después de la inyección para el caso de la atropina, tiempo en el que hay un efecto marcado para cada droga[25].

El análisis se realizó de la misma forma que en los capítulos 4 y 5.

Para la estadística se utilizó un modelo lineal multinivel, incluyendo el animal y las sesiones como efecto aleatorio. También se calcularon los FB y los tamaños del efecto mediante d de Cohen.

6.5. Resultados

En la figura 6.2 se muestran registros crudos del ECoG en tres cortezas representativas realizados en un gato antes y después de la administración de atropina y escopolamina. Como se puede apreciar en la figura, tanto para la atropina como para la escopolamina se observa la presencia de husos y de ondas lentas.

6.5.1. La complejidad disminuye homogéneamente en todas las áreas bajo escopolamina y atropina

Acorde con nuestra hipótesis, con respecto a la vigilia, tanto la atropina como de escopolamina disminuyeron la CLZ tanto a nivel cortical como en los núcleos talámicos estudiados (Figura 6.3 A y B) (ver estadística en el Cuadro 6.1).

También se calcularon los tamaños del efecto mediante d de Cohen (Cuadro 6.1). Puede observarse que para la atropina el tamaño del efecto es pequeño (valores entre 0,21 a 0,49) mientras que para la escopolamina es moderado (valores entre 0,50 a 0,70).

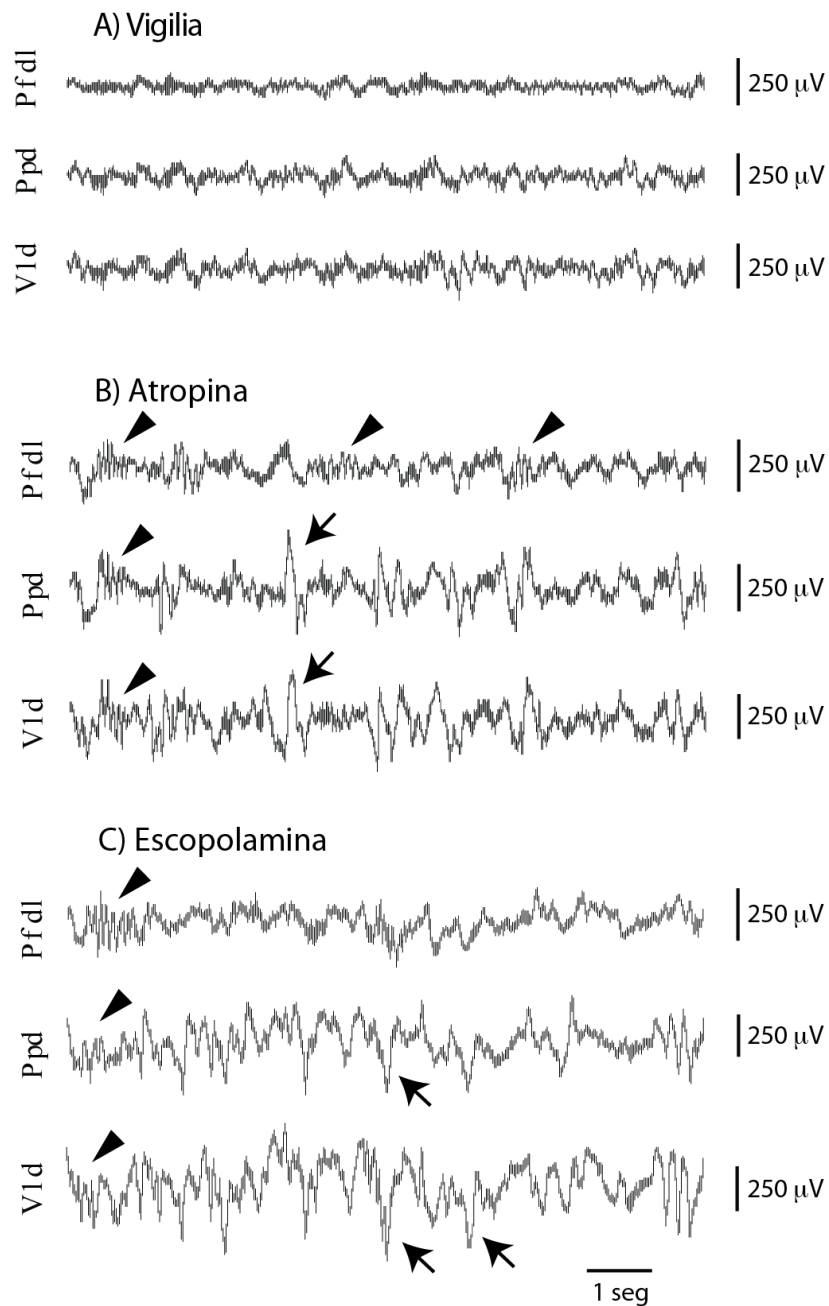


Figura 6.2 Registros electrocorticográficos de cortezas representativas antes (A) y después de la administración de atropina (B) y escopolamina (C). Las flechas indican ondas lentas y las cabezas de flechas indican husos.

Corteza	Grupo	Gato	Sesiones	valor p	FB	d de Cohen
Scalp	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$1,59 \times 10^{+57}$	-1,13
NGLi	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$3,60 \times 10^{+131}$	-0,39
NGMd	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$2,37 \times 10^{+91}$	-0,31
Pfrd	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	2	5	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$2,98 \times 10^{+96}$	-0,49
Pfdl	W vs Atro	2	5	$1,70 \times 10^{-13} ***$	$4,75 \times 10^{+08}$	-0,30
	W vs Escopo	3	6	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$5,26 \times 10^{+160}$	-0,50
M1d	W vs Atro	1	4	$< 2 \times 10^{-16} ***$	$2,29 \times 10^{+52}$	-0,23
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$5,81 \times 10^{+49}$	-0,79
A1d	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$3,18 \times 10^{+94}$	-0,37
A1i	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	1	3	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$1,12 \times 10^{+103}$	-0,59
S1d	W vs Atro	2	4	$< 2 \times 10^{-16} ***$	$2,25 \times 10^{+21}$	-0,23
	W vs Escopo	2	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$9,78 \times 10^{+67}$	-0,67
S1i	W vs Atro	1	3	$9,82 \times 10^{-16} ***$	$4,04 \times 10^{+32}$	-0,04
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$1,12 \times 10^{+55}$	-0,54
Ppd	W vs Atro	4	11	$< 2 \times 10^{-16} ***$	$4,42 \times 10^{+130}$	-0,20
	W vs Escopo	3	6	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$1,20 \times 10^{+185}$	-0,27
Ppi	W vs Atro	3	11	$< 2 \times 10^{-16} ***$	$8,53 \times 10^{+112}$	0,01
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$9,45 \times 10^{+155}$	-0,33
V1d	W vs Atro	2	2	$3,6 \times 10^{-14} ***$	$3,67 \times 10^{+09}$	-0,27
	W vs Escopo	3	6	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$1,29 \times 10^{+201}$	-0,25
V1i	W vs Atro	-	-	-	-	-
	W vs Escopo	1	4	$< 2,0 \times 10^{-16} ***$	$1,51 \times 10^{+143}$	-0,34

Cuadro 6.1 Estadísticas de complejidad antes y después de la administración de Atropina o Escopolamina. Se ejecutaron modelos de efectos mixtos para cada corteza, incluido el gato como efecto aleatorio cuando correspondía. Se utilizaron FB. Los asteriscos indican evidencia sustancial a favor de la Hipótesis Alternativa ($FB > 5$). A1d, corteza auditiva primaria derecha; A1i, corteza auditiva primaria izquierda; GenBip, genicualdo lateral bipolar; M1d, corteza motora primaria derecha; NGLi, núcleo geniculado lateral izquierdo; NGMd, núcleo geniculado medial derecho; Pfdl, corteza prefrontal dorsolateral derecha; Pfrd, corteza prefrontal rostral derecha; Ppd, corteza parietal posterior derecha; Ppi, corteza parietal posterior izquierda; S1d, corteza somatosensorial primaria derecha; S1i, corteza somatosensorial primaria izquierda; V1d, corteza visual primaria derecha; V1i, corteza visual primaria izquierda.

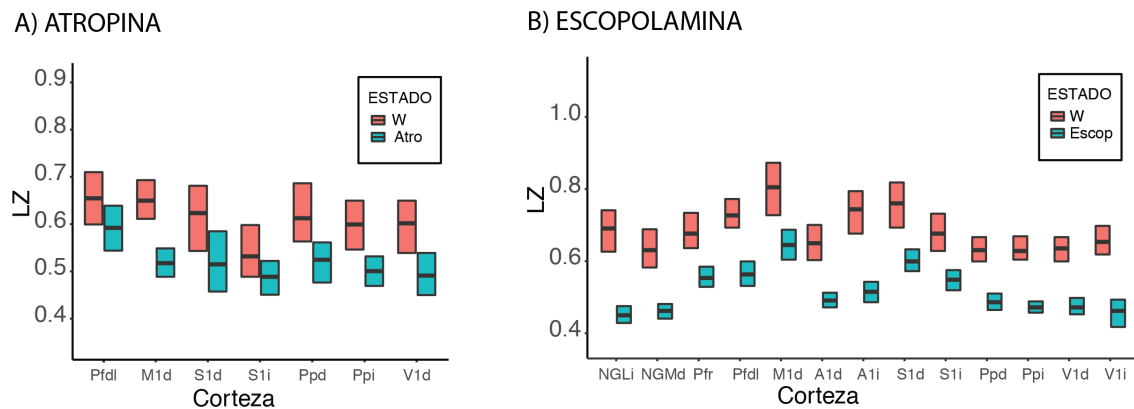


Figura 6.3 Modulación de la CLZ por Escopolamina y Atropina. Cada gráfico representa la suma de las diferentes sesiones para cada estado de los diferentes gatos que tienen esa corteza, por lo tanto el número de gatos es diferente por corteza. (A) Atropina. (B) Escopolamina. A1d, corteza auditiva primaria derecha; A1i, corteza auditiva primaria izquierda; GenBip, genicualdo lateral bipolar; M1d, corteza motora primaria derecha; NGLi, núcleo genicualdo lateral izquierdo; NGMd, núcleo genicualdo medial derecho; Pfdl, corteza prefrontal dorsolateral derecha; Pfrd, corteza prefrontal rostral derecha; Ppd, corteza parietal posterior derecha; Ppi, corteza parietal posterior izquierda; S1d, corteza somatosensorial primaria derecha; S1i, corteza somatosensorial primaria izquierda; V1d, corteza visual primaria derecha; V1i, corteza visual primaria izquierda.

6.6. Discusión

Este trabajo investiga los cambios en los patrones de CLZ en diversas áreas cerebrales durante los efectos de la escopolamina y la atropina. Además, el estudio también profundiza en la comparación de los tamaños del efecto sobre la CLZ generados por dichas sustancias. A su vez discutiremos estos resultados en comparación con los cambios en la CLZ durante el sueño y la ketamina.

6.6.1. Cambios en la complejidad bajo el efecto de atropina y escopolamina comparado con el efecto de dosis subanestésicas de ketamina y las etapas de sueño

En este trabajo hipotetizamos que la CLZ del ECoG sería menor bajo el efecto de atropina y escopolamina ya que ambos producen ondas lentas en el ECoG, que revelan una actividad predecible del ECoG [25]. A su vez, eso se ve acompañado de cambios cognitivos que revelan un estado más simple de conciencia y cognición, con alteraciones de la memoria [95, 65].

Acorde con nuestra hipótesis y a diferencia de lo observado con ketamina, donde se observó un patrón heterogéneo en la complejidad a nivel cortical, tanto durante el efecto de escopolamina como de atropina, la CLZ disminuyó homogéneamente en todas las áreas estudiadas, incluyendo cortezas y tálamos. Este efecto es similar a la caída en la complejidad observada durante el SWS, que es homogénea para todas las cortezas estudiadas. Para el caso de los anticolinérgicos no realizamos una curva dosis-efecto como lo hicimos para la ketamina, sino que las dosis utilizadas son dosis altas capaces de generar un efecto disociativo, es decir, la presencia de ondas lentas de gran amplitud y husos mientras el animal se encuentra en vigilia comportamental. No es posible descartar con esta serie de datos que a menores dosis de estos fármacos la dinámica de la complejidad pueda ser heterogénea a través de las cortezas.

Previamente demostramos que las dosis subanestésicas de ketamina producen un efecto diferente en las medidas de la CLZ en diversas regiones cerebrales [101]. En las cortezas prefrontal y auditiva, aumenta la CLZ, mientras que en las cortezas posteriores disminuye. Este efecto contrasta con el efecto homogéneo observado en las etapas de sueño en los mismos gatos [101]. Si bien no realizamos una curva de dosis-efecto para estas sustancias, realizamos el análisis con dos drogas anticolinérgicas y en ambas se observó un resultado similar. Que el efecto sea similar para ambos fármacos reafirma que el bloqueo de los receptores colinérgicos muscarínicos a nivel cerebral, genera una disminución global en la CLZ. Es decir que los

cambios observados en la CLZ bajo el efecto de atropina y escopolamina son homogéneos al igual que los observados durante el sueño (capítulo 4).

6.6.2. Efectos en el estado de conciencia y funciones cognitivas de anticolinérgicos a altas dosis

Se ha descrito en seres humanos que las drogas anticolinérgicas provocan un estado en el cual el sujeto está vigil mientras que su estado de conciencia esta alterado [95, 65]. Estudios farmacológicos clásicos también han demostrado alteraciones cognitivas en humanos tratados con atropina [98]. Esta droga produce una disminución en el habla y el movimiento espontáneos, deterioro de la memoria y la atención, y somnolencia. Sin embargo, los sujetos son capaces de responder a preguntas simples y realizar tareas sin requerir una atención o memoria prolongada. Pueden sentarse, pararse, abrir o cerrar los ojos o extender sus extremidades a pedido, aunque se mueven más lentamente que en el período previo a la administración del medicamento. La escopolamina también produce sedación, deterioro de las habilidades coordinativas y reactivas, trastornos visuales y disminución de la memoria a corto plazo [95, 65]. Además, la droga afecta el tiempo de reacción simple y de elección, y las tareas de exploración de la memoria. Por el contrario, no modifica el reconocimiento de palabras ni la memoria retardada de palabras [38]. Sahakian (1988) sugirió que los efectos más prominentes de la escopolamina son aquellos que involucran procesos de discriminación, vigilancia, atención selectiva, así como la consolidación y recuperación de memorias [109].

A su vez, la alteración del procesamiento de la memoria también se ha evidenciado en experimentos provenientes de modelos animales [79, 86]. Este estado cognitivo más simple con capacidades reducidas podría estar en la base de la disminución de la complejidad neural global. Siendo que la medida de la CLZ se ha validado como medida del nivel de conciencia [114, 115], podría interpretarse que el nivel de conciencia bajo el efecto de anticolinérgicos es globalmente menor al estado de vigilia.

El comportamiento también se ve alterado en animales bajo el efecto de estas drogas. En el gato la escopolamina interrumpe la fase ejecutiva de la depredación (es decir, el agarre letal) y el consumo de presas sin perturbar la fase preparatoria (motivacional) de la depredación (generalmente expresada en el interés por el ratón y su aproximación mediante agazaparse, correr o saltar) [143].

Curiosamente, después del tratamiento con atropina o escopolamina, el comportamiento de vigilia mencionado anteriormente en animales y humanos se acompaña de husos del sueño y ondas lentas en el EEG [137, 15, 76, 141, 98, 14, 112, 59]. Los resultados presentados también demuestran este hecho. Sin embargo, aunque no realizamos un análisis profundo de las ondas lentas y los husos, estas ondas son similares a las presentes durante el SWS [25].

6.7. Conclusiones

En este trabajo evidenciamos una disminución homogénea de la CLZ bajo el efecto tanto de atropina como de escopolamina en todas las áreas registradas incluyendo cortezas y núcleos geniculados. Esta caída de la complejidad estaría relacionada con las ondas lentas presentes en el ECoG y con los cambios cognitivos, como las alteraciones de la memoria, producidos por estas drogas.

Capítulo 7

Correlatos neurales de las predicciones auditivas y su modulación durante el sueño

7.1. Introducción

Una pregunta importante en neurociencias, es si el proceso de predicción auditiva se puede mantener durante el sueño y cómo es modulado durante las distintas etapas de sueño [123]. Este conocimiento puede aportar información fundamental sobre el funcionamiento del cerebro, las funciones del sueño y abrir nuevas puertas para aplicaciones clínicas y tecnológicas. Por ejemplo, entender cómo se modula la predicción auditiva durante las distintas etapas del sueño puede proporcionar una visión más detallada de las funciones específicas de cada etapa. Si este mecanismo persiste durante el sueño, podría plantearse su participación en la consolidación de la memoria u otros procesos que ocurren durante el sueño.

Recientemente, se ha propuesto que el MMN es un correlato neural de la predicción auditiva [48] y este se genera mediante la estimulación sensorial con paradigmas Oddball

(como el paradigma Roving). En el paradigma Roving, un sonido desviado se continúa repitiendo y de esa forma se convierte en estándar, hasta que aparece un nuevo estímulo desviado que luego se convierte en estándar, y así sucesivamente. Este paradigma intenta capturar la señal de error restando importancia a las características del estímulo.

Una respuesta similar al MMN también es generada usando el paradigma Global Local. En este trabajo nos referiremos a la señal de error generada por el paradigma Global Local como “Efecto Local” y a la generada por el paradigma Roving como “MMN”. El paradigma Global Local [9], evalúa la respuesta cerebral a las variaciones de las regularidades de estímulos sonoros en el tiempo; incluye variaciones de las regularidades temporales “locales” (protocolos cortos de estimulación), o “globales” (en que se viola la regularidad de patrones temporales más extendidos en el tiempo). La señal de error generadas a nivel local y global representarían dos niveles jerárquicos de predicción diferentes que se logran separar con este paradigma [27].

Algunos estudios que utilizaron paradigmas Oddball durante el sueño sugieren que los componentes del EEG relacionados a los procesos predictivos permanecen durante el sueño NREM y REM con características similares a la vigilia. Sin embargo, otros estudios revelan resultados contradictorios en los cuales el MMN y el Efecto Local no se observan durante el sueño. Además, no existe ningún trabajo que estudie dichos potenciales cognitivos durante el sueño a nivel del tálamo [123].

Strauss y cols. (2015) mostraron en seres humanos que el Efecto Local registrado por EEG y MEG está presente en N1, N2 y REM, pero con una estructura incompleta; en comparación con la vigilia, un pico específico que refleja el error de predicción no está presente durante el sueño. Los autores interpretaron que el sueño deja intactos el procesamiento auditivo inicial y la adaptación de la respuesta, pero interrumpe específicamente la codificación predictiva auditiva [120]; cabe destacar que este trabajo no estudia la fase N3. Es importante tener en cuenta que los trabajos que estudiaron el MMN y Efecto Local durante el sueño [123], la

respuesta está contaminada con información *bottom-up*, por lo que no nos asegura que sea puramente cognitiva. Para separar la respuesta *top-down* del resto de la señal, se han diseñado los paradigmas de omisión [28]. Hasta la fecha, no existe en la bibliografía ningún trabajo que estudie el efecto de omisión durante el sueño.

7.2. Objetivos específicos

1. Poner a punto la técnica de potenciales evocados usando los paradigmas Roving y Global Local en el gato.
2. Describir durante la vigilia, los correlatos neurales de las predicciones auditivas en el gato generadas por dos paradigmas cognitivos: Roving y Global Local.
3. Estudiar cómo es modulada la dinámica neural que subyace a los errores de predicción (desviaciones de sonido y desviaciones por omisión) durante la vigilia, sueño NREM y sueño REM.

7.3. Hipótesis

Esperamos que tanto la amplitud de la respuesta de omisión, como la respuesta MMN y el Efecto Local se reduzcan o desaparezca tanto durante el sueño NREM como el sueño REM¹.

7.4. Métodos

7.4.1. Protocolo experimental con tareas cognitivas

En esta serie experimental utilizamos tres gatos adultos. Los gatos fueron registrados diariamente durante la vigilia y el sueño por 4 horas mediante ECoG. En ese periodo se

¹Preregistrado en OSF, <https://osf.io/tfjwg>.

presentaron de manera repetitiva los paradigmas auditivos a estudiar. En cada sesión el paradigma se presentó un total de 8 veces con espacios de silencio de 15 minutos entre cada repetición. El experimento de 8 sesiones se repitió ≈ 15 veces (15 días) en cada animal.

Los paradigmas de estímulos auditivos se generaron mediante el programa Matlab y códigos adecuados elaborados por colaboradores y modificados por mí para ser utilizados en nuestro dispositivo experimental. El sonido se proporcionó mediante parlantes (Beyer DT48) adaptados para los gatos.

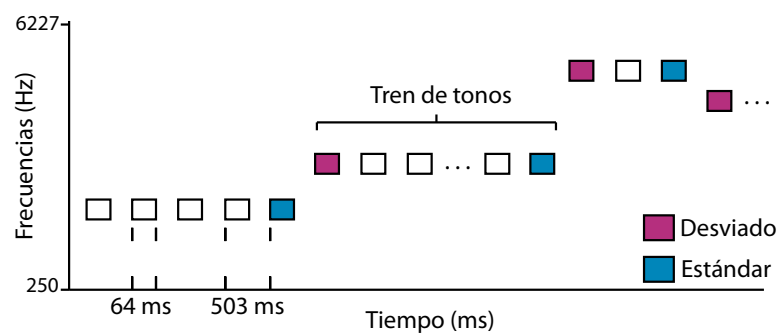
Utilizamos dos tipos de protocolos de estimulación o “paradigmas” cognitivos: Roving [19] y Global Local [9]. Para este último utilizamos una variante que incluye tanto la omisión de estímulos como estímulos desviados [28]. En el experimento, los paradigmas Roving y Global Local se presentaron de forma intercalada en días alternos.

7.4.2. Paradigmas experimentales

PARADIGMA ROVING: Se presentaron trenes de tonos únicos repetitivos con diferentes longitudes de 20 frecuencias diferentes entre 250–6727 Hz, presentadas de forma pseudo-aleatoria. Cada tono tiene una duración de 64 ms, y el intervalo entre cada estímulo es de 503 ms (Figura 7.1). Los estímulos son tonos ahusados, binaurales y se presentaron con una intensidad de 60 dB SPL. Los tonos son idénticos dentro de cada tren de estímulos, pero difieren entre los trenes de estímulos. Por lo tanto, el primer tono de un tren se considera un tono desviado inesperado y el tono final se considera un tono estándar esperado [19].

PARADIGMA GLOBAL LOCAL: El paradigma experimental se implementó siguiendo el diseño utilizado por Chennu (2016) modificado [28]. Cada sesión constaba de 6 tipos de bloques, con 3 minutos de descanso entre bloques. Cuatro de estos eran bloques experimentales, mientras que dos eran bloques control. Se presentaron sonidos constituidos por las vocales E y O, de 50 ms de duración y 60 dB SPL de intensidad. Estos se presentaron en forma binaural, en secuencias o tren de estímulos agrupados de 4 o 5 sonidos, con intervalos breves de 100 ms.

A Paradigma



B Diseño experimental

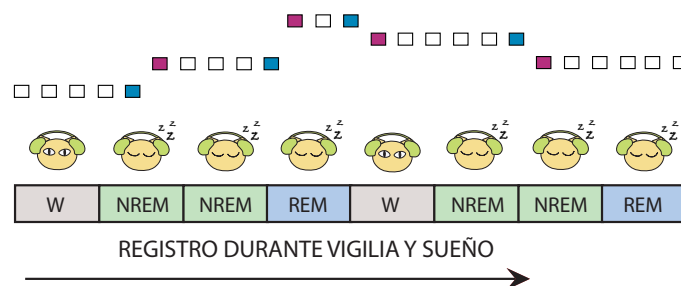


Figura 7.1 Paradigma Roving. (A) Se presentaron veinte tonos únicos diferentes en trenes de 3, 5 u 11 estímulos idénticos. Los tonos adyacentes estándar (representados en azul) y desviados (representados en magenta) cambian de frecuencia durante la transición entre los trenes. Sin embargo, el primer y último tono dentro del mismo tren son considerados como tonos desviado y estándar respectivamente a pesar de que tienen la misma frecuencia de sonido. (B) Esquema que ilustra el diseño experimental para registros electrocorticográficos y presentación de los estímulos durante los diferentes estados de sueño. W = vigilia; NREM = sueño no REM; REM = sueño de movimientos oculares rápidos.

Los trenes se presentaron cada 1400 ms. Como se visualiza en la Figura 7.2, en cada prueba, los animales escucharon una serie de 5 sonidos cortos donde los primeros 4 eran siempre idénticos y el último era idéntico (EEEEEE u OOOOOO, estándar local), o diferente (EEEEEO u OOOOEO, desviación local). En un bloque adicional en lugar de un sonido diferente se presentó la omisión del 5to sonido (EEEE_ u OOOO_, “omisión”), que también representa una desviación local. La regularidad general de cada bloque experimental se definió en función de la frecuencia (74 % o 13 %) de cada uno de estos dos tipos de pruebas.

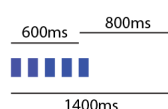
De esta forma, se pueden definir 5 condiciones para cada prueba (“estándar local y estándar global”, “desviación local y desviación global”, “desviación local y estándar global”, “estándar local y desviación global” y “omisión”).

Un bloque adicional, que no se muestra en la figura, consiste en la condición de control de omisión. En este bloque solo se presenta el ensayo de omisión (EEEE_ u OOOO_) durante todo el bloque para que el animal no reconozca que falta un sonido. En el análisis, las desviaciones por omisión se contrastan con el control por omisión. En ambos el animal escucha la misma serie de cuatro sonidos, pero en el desviado el animal espera que llegue un sonido, mientras que en el control no espera escuchar ningún sonido. Esto intenta capturar la señal de error más pura (*top-down*) en ausencia de *bottom-up*.

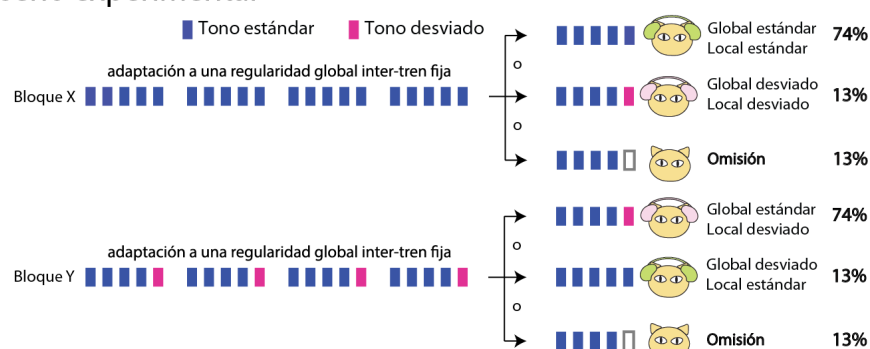
Se presentaron aproximadamente 135 secuencias en cada bloque, con una duración de alrededor de 3,2 minutos. Cada bloque experimental comenzaba con una fase de habituación, que constaba de 10 presentaciones de una secuencia de 5 sonidos que ocurriría comúnmente en el resto del bloque, para establecer claramente para los animales cuál es el estándar general. Esto fue seguido inmediatamente por la fase de prueba, que constó de 115 secuencias. De estos, 85 (aprox. 74 %) fueron el estándar global. El resto eran secuencias desviadas globales raras.

Había 15 (aprox. 13 %) de cada tipo de secuencia desviada en un bloque, intercaladas pseudoaleatoriamente entre los estándares globales. Siempre se presentaban entre 2 y 5 estándares globales entre una secuencia desviada y la siguiente.

A Diseño del tren de estímulos



B Diseño experimental



C Protocolo experimental

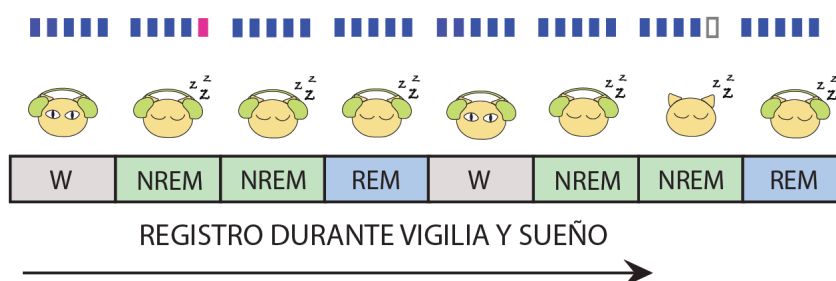


Figura 7.2 Paradigma Global Local. (A) En cada prueba, se presentaron 5 sonidos complejos de 50 ms de duración. Se utilizaron 4 tipos diferentes de series sonoras, en las 2 primeras se utilizaron los mismos 5 sonidos (EEEEEE u OOOOOO), y en la segunda serie de sonidos eran EEEEO, OOOOE en el caso del desviado, o EEEE_ u OOOO_ para la omisión. (B) Cada bloque comenzó con 10 sonidos frecuentes para establecer la regularidad global antes de presentar el primer estímulo poco frecuente con desviación u omisión. (C) Esquema que ilustra el diseño experimental para registros electrocorticográficos y presentación de los estímulos durante los diferentes estados de sueño. Un bloque adicional que no se muestra en la figura consiste en la condición de control de omisión. W = vigilia; NREM = sueño no REM; REM = sueño de movimientos oculares rápidos.

El tipo vocal dominante (E u O) de la secuencia presentada dentro de cada bloque, fueron contrastados dando como resultado 4 bloques experimentales enumerados en el cuadro 7.1.

Tipo de tono	Tipo de bloque	Estándar	Desviado	Omisión
E	X	EEEEEE	EEEEEO	EEEE_
O	X	OOOOO	OOOOE	OOOO_
E	Y	EEEEEO	EEEEEE	EEEE_
O	Y	OOOOE	OOOOO	OOOO_
E	C	EEEE_	EEEE_	EEEE_
O	C	OOOO_	OOOO_	OOOO_

Cuadro 7.1 Tipos de bloques presentados en el paradigma Global Local. Los cuatro tipos de bloques presentados fueron presentados en orden aleatorio, intercalados con dos bloques control.

Entonces, por ejemplo, en el bloque E-X (Cuadro 7.1, primera fila), la secuencia EEEEE estándar localmente también era el estándar global. Desviaciones globales raras en este bloque también fueron desviadas localmente, ya sea la secuencia EEEEO, o la secuencia de omisión EEEE_ donde se omitió el quinto sonido. Por el contrario, en el bloque O-Y (Cuadro 7.1, cuarta fila), la secuencia OOOOE localmente desviada era ahora el estándar global. Las desviaciones globales en este bloque fueron la secuencia OOOOO estándar local o la secuencia de omisión OOOO_.

7.4.3. Preprocesamiento

Los datos se preprocesaron en Matlab utilizando la caja de herramientas de eeglab, donde se filtraron con paso de banda entre 4 y 25 Hz. También se utilizaron filtros de tipo *notch* en 50, 100 y 150 Hz. Los conjuntos de datos se segmentaron en épocas que van desde -800 a 600 ms en relación con el inicio del quinto sonido o la omisión para el paradigma Global Local, y -500 a 500 ms para el paradigma Roving. Estas épocas contienen tanto las condiciones desviada como estándar. Luego, dichas épocas fueron inspeccionadas visualmente y se eliminaron las que contenían artefactos.

Posteriormente, los datos se organizaron separando las épocas en grupos según las diferentes etapas del sueño mediante estadificación visual. Se eliminaron las épocas que contenían artefactos oculares o de movimiento. Nótese que para el paradigma Global Local

no hubo datos suficientes (menos de 60 ensayos) durante la etapa de sueño REM, por lo cual estos resultados no se presentan en esta tesis. El número de ensayos para el análisis de los ERPs debe ser mayor a 60 para ser estadísticamente confiable.

7.4.4. Análisis de los ERPs

Después de preprocesar los datos, se analizaron los ERPs estándares y desviados para las diferentes condiciones y estados tanto para las cortezas como para los tálamos. Los ERPs se calculan como el promedio punto por punto de todos los ensayos para cada estado y condición siguiendo los contrastes según el paradigma.

PARADIGMA ROVING: En este paradigma los tonos desviados son el primer tono de un tren y el tono final de cada tren se considera un tono estándar. Dichas épocas son promediadas por separado para obtener los ERPs para ambas condiciones.

PARADIGMA GLOBAL LOCAL: La Figura 7.2 ilustra la estructura de los tipos de bloques X e Y, que permiten crear contrastes ortogonales locales y globales en 4 bloques experimentales. En estos paradigmas, las secuencias de estándares globales en bloques X también eran estándares locales, mientras que los estándares globales en bloques Y eran desviaciones locales. Esto significa que la secuencia de sonidos que servía como estándar global en un bloque X era el bloque Y complementario, y viceversa. De esta forma, pudimos contrastar los estándares locales promediando las pruebas estándar globales en bloques X y las pruebas de desviación global en bloques Y), contra las desviaciones locales (promediando las pruebas de desviación global en bloques X y las pruebas estándar globales en bloques Y). Las omisiones siempre fueron desviadas local y globalmente en los bloques experimentales, que se promediaron y contrastaron con las presentadas en los bloques de control.²

²En esta tesis sólo estudiamos el Efecto Local. Si quisiéramos calcular el Efecto Global deberíamos contrastar los estándares globales (promedio de los ensayos estándar globales en bloques X e Y) con las desviaciones globales (promedio de los ensayos de desviación global en bloques X e Y).

7.4.5. Estadística

El análisis estadístico se hizo por sujeto y en cada localización cerebral por separado. Esto se realizó así porque el registro de los ERPs registrado de forma intracranial cambia dependiendo de varios factores, incluyendo la anatomía del cerebro del gato y la posición de los electrodos, por lo cual el promedio de los sujetos puede resultar en la anulación del efecto.

Para el análisis estadístico de los ERPs se utilizó Test de t con un nivel de significancia de $p < 0,05$. El test se realizó punto por punto utilizando Matlab (frecuencia de muestreo de 250 Hz) y visualizando en los gráficos los tiempos con significancia estadística. Además utilizamos modelos lineales multinivel o mixtos para estudiar la modulación durante el sueño. Este último test se aplicó en nuestra ventana de interés de 0 a 200 ms. Para ello se incluyó la condición como efecto fijo, y como efecto aleatorio se incluyó el estado (vigilia, sueño NREM o REM). A su vez se agregó la interacción entre la condición y el estado en la misma función. Adicionalmente, se calculó la interacción entre corteza y estado de sueño. Se realizó la corrección de comparaciones múltiples mediante la prueba *False Discovery Rate* (FDR).

7.5. Resultados

7.5.1. Señal de error generada por el paradigma Roving

En la figura 7.3 y 7.4, se muestra los ERPs obtenidos para las condiciones estándar y desviado para dos de los animales estudiados. En primer lugar, se observa que la respuesta MMN está presente en todas las cortezas registradas, así como en los núcleos talámicos.

La forma de onda observada en la respuesta es diferente para los dos animales, pero para ambos casos se observa una mayor amplitud de la respuesta cortical a medida que se progresa en el sentido anteroposterior.

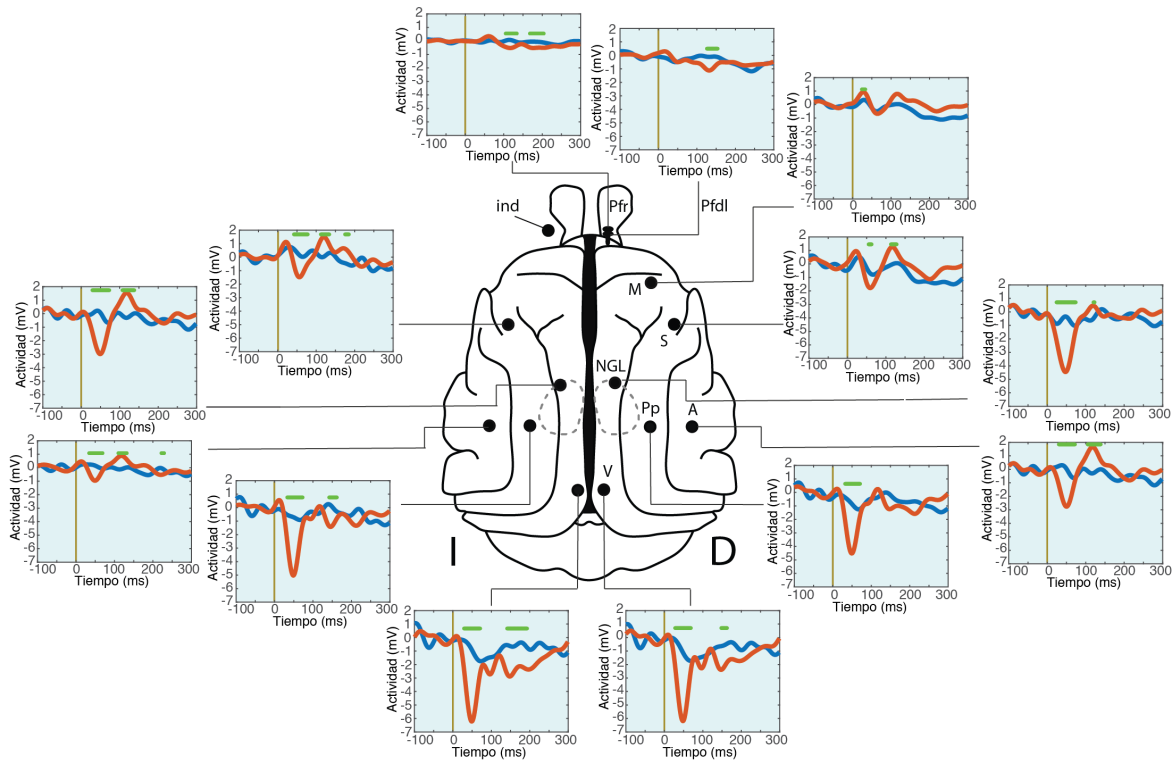


Figura 7.3 Respuesta MMN en estado de vigilia obtenido en el gato Neg. La figura muestra los ERPs registrados en el gato en estado de vigilia, obtenidos utilizando el paradigma Roving. Los ERPs obtenidos en respuesta a estímulos estándar se muestran en azul, y en respuesta a estímulos desviados, en rojo. Se muestra el promedio de 1370 ensayos. Se puede observar una diferencia entre desviado y estándar que representa el MMN. El tiempo cero representa el inicio del estímulo. La línea verde indica la significancia estadística $p < 0,05$. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; NGL = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia. La D indica la corteza derecha y la I indica la corteza izquierda.

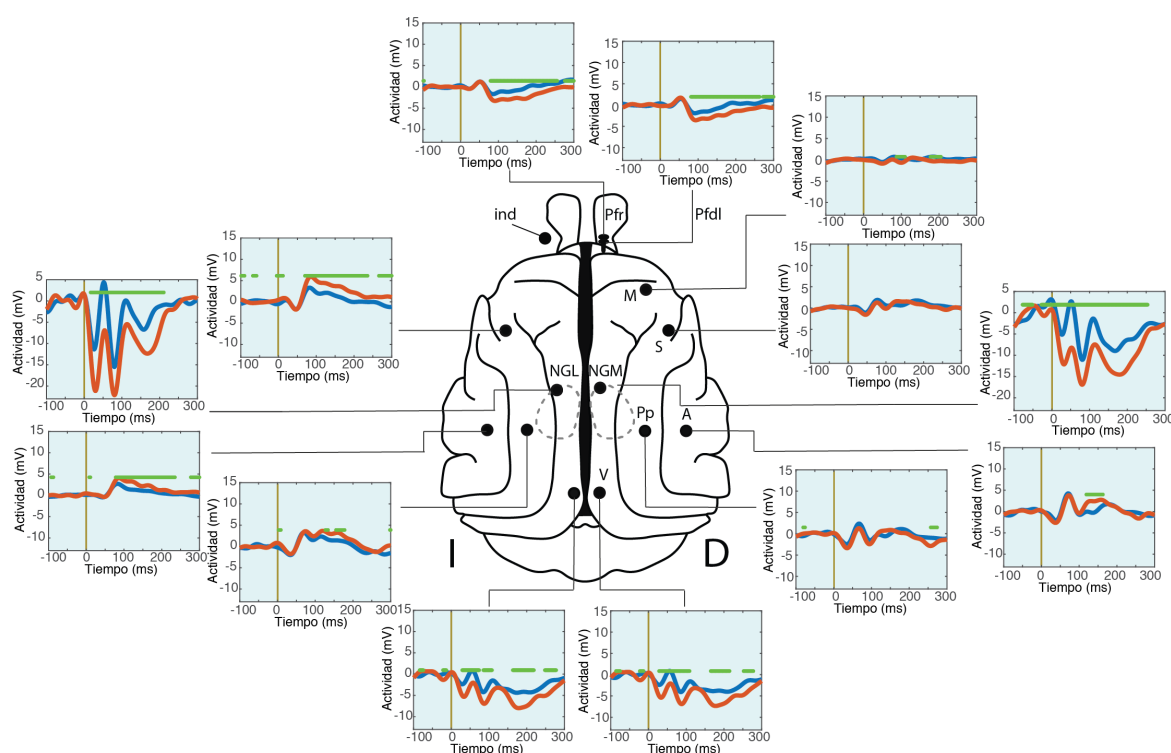


Figura 7.4 Respuesta MMN en estado de vigilia obtenido en el gato Nim. La figura muestra los ERPs registrados en el gato en estado de W, obtenidos utilizando el paradigma Roving. Los ERPs obtenidos en respuesta a estímulos estándar se muestran en azul, y en respuesta a estímulos desviados, en rojo. Se muestra el promedio de 1280 ensayos. Se puede observar una diferencia entre desviado y estándar, que representa la señal de error. El tiempo cero representa el inicio del estímulo. La línea verde indica la significancia estadística $p < 0,05$. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; NGL = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia. La D indica la corteza derecha y la I indica la corteza izquierda.

7.5.2. MMN durante el sueño

En consonancia con nuestra hipótesis, se observa una considerable reducción en la señal de error durante el sueño NREM. En la Figura 7.5A, se presentan los ERPs obtenidos en dos localizaciones representativas en el gato Neg: la corteza prefrontal rostral derecha y la corteza auditiva primaria derecha.

Para testear estadísticamente nuestra hipótesis en todas las localizaciones, utilizamos un modelo lineal mixto incluyendo la condición (estándar o desviado), el estado (vigilia y sueño NREM), y también se incluyó la interacción entre el estado y la condición. De esta manera se puede testear si hay modulación entre estado y condición, y como varía en cada corteza.

Los resultados estadísticos para los tres animales se muestran en la figura 7.5B, C y D. Cuando se compara vigilia contra sueño NREM se observa modulación por condición y por estado pero escasa o nula interacción. El efecto es observado en todas las cortezas estudiadas y también ambos tálamos. Sin embargo, existe gran variabilidad en los tiempos donde se observa la significancia estadística entre cortezas y animales.

Un análisis similar se realizó para estudiar la modulación durante el sueño REM. Cuando se contrastó sueño REM en relación a la vigilia, también se observó un efecto de estado para todas las cortezas estudiadas en dos de los animales, mientras que el efecto de condición no fue significativo en todas las localizaciones (Figura 7.6). Si embargo, en uno de los animales no se observaron diferencias significativas para el efecto de condición ni para el efecto de estado.

7.5.3. Señal de error generada por el paradigma Global Local

En la figura 7.7 y 7.8 se muestran ejemplos del Efecto Local obtenido en dos animales representativos. En este caso, el cero en el eje de tiempo fue desplazado hacia la derecha y coincide con el inicio del quinto sonido, el cual puede ser estándar o desviado. En dichas figuras, se puede apreciar que hay una primera respuesta en el tiempo -600 ms, y que en

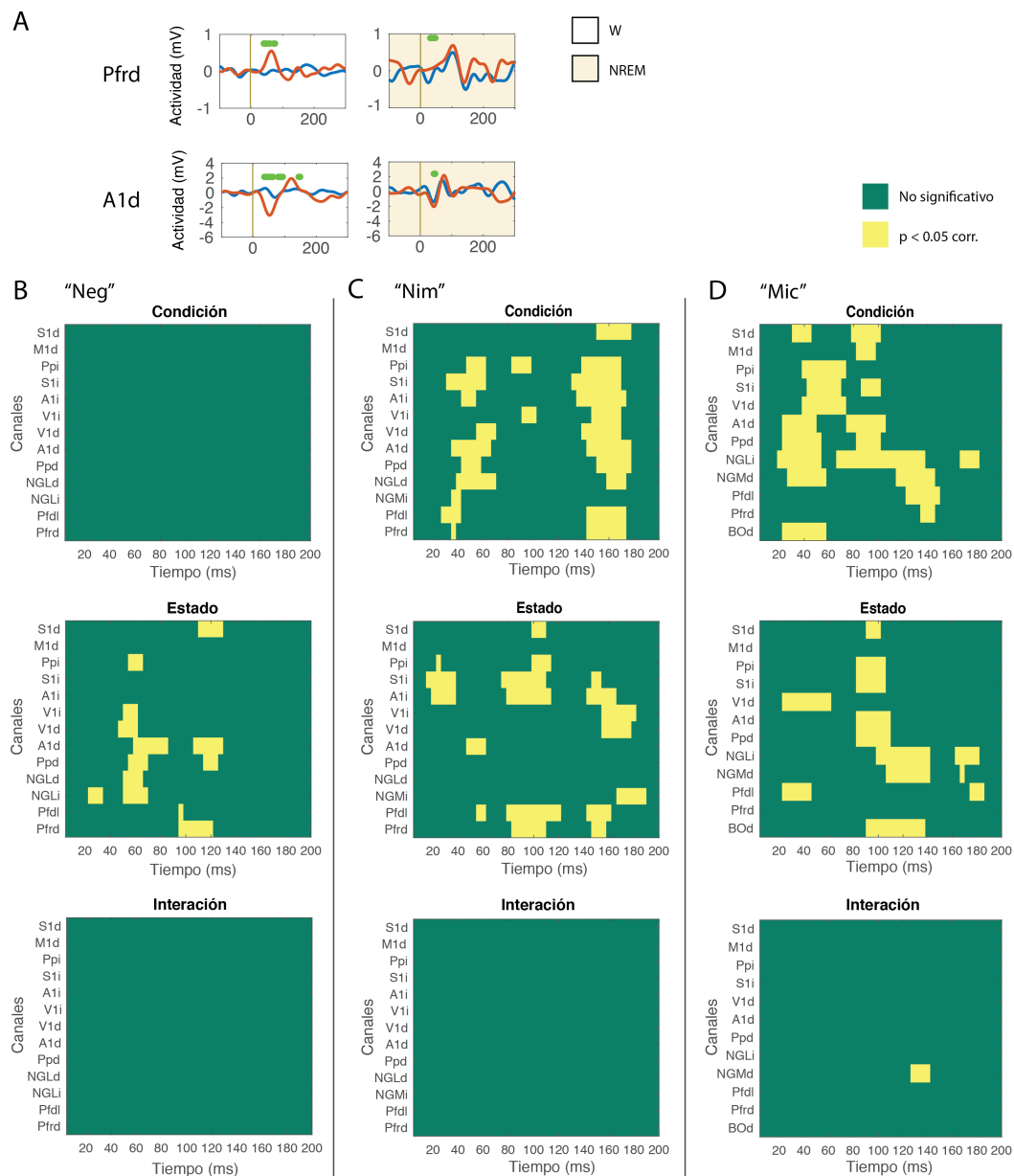


Figura 7.5 Modulación del MMN durante el sueño NREM. En A se muestra los ERPs de dos cortezas representativas correspondientes al gato Neg. En B, C y D se muestran los resultados estadísticos para todas las cortezas para los gatos Neg, Nim y Mic respectivamente. En color amarillo se muestran los valores de $p < 0,05$ corregido por comparaciones múltiples, para la condición (desviado vs. estándar), el estado (W vs. sueño NREM) y la interacción (condición y estado) para todas las cortezas. Se muestra la ventana temporal de 0 a 200 ms. Pfrd = corteza prefrontal rostral derecha; A = corteza auditiva primaria derecha; W = vigilia; NREM = sueño NREM.

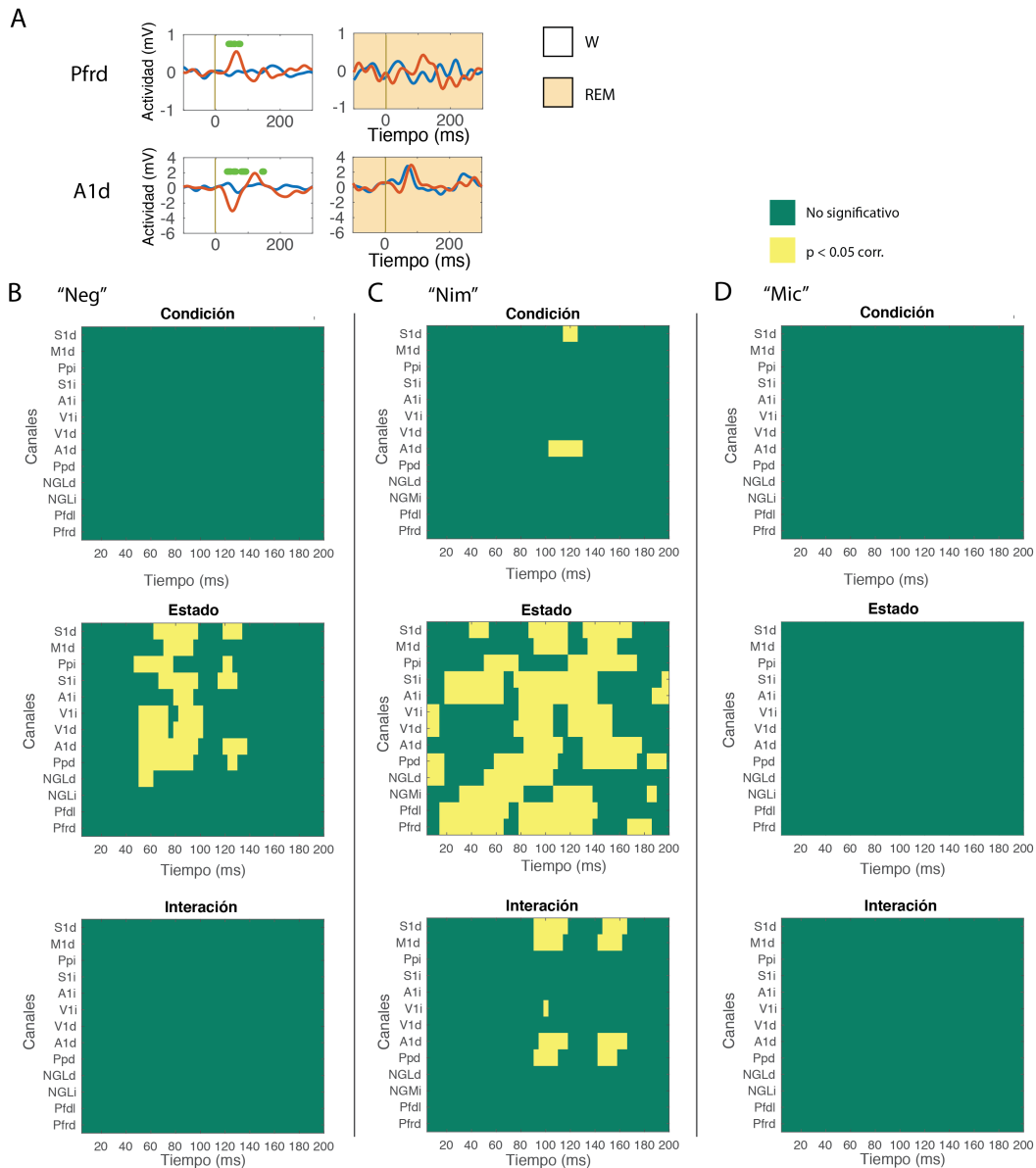


Figura 7.6 Modulación del MMN durante el sueño REM. En A se muestra los ERPs de dos cortezas representativas correspondientes al gato Neg. En B, C y D se muestran los resultados estadísticos para todas las cortezas para el gato Neg, Nim y Mic respectivamente. En color verde se muestran los valores de $p < 0,05$ para la condición (desviado vs. estándar), el estado (W vs. sueño REM) y la interacción (condición y estado) para todas las cortezas. Se muestra la ventana temporal de 0 a 200 ms. Pfrd = corteza prefrontal rostral derecha; A = corteza auditiva primaria derecha; W = vigilia; REM = sueño REM.

algunas cortezas se visualiza la respuesta a cada uno de los estímulos la cuál va disminuyendo en amplitud. Inmediatamente después del cero se observa la respuesta al estímulo desviado, siendo ésta de mayor amplitud, y en general no se aprecia una respuesta al sonido estándar o es muy pequeña.

7.5.4. Efecto Local durante el sueño

Similarmente a lo observado para el MMN, el Efecto Local también es modulado durante el sueño. Observamos que la señal de error que se obtiene durante el estado de vigilia, se reduce considerablemente durante el sueño NREM. Esto se puede observar en la figura 7.9A donde se muestran ejemplos de la respuesta obtenida en la corteza prefrontal rostral derecha y auditiva primaria derechas del gato Neg.

Los resultados del análisis estadístico para todas las cortezas se presentan en la figura 7.9 B. Al igual que para el MMN, se realizó un modelo multinivel para estudiar la modulación por estado, por condición y también se estudió la interacción entre ambos. En la figura se aprecia que para los tres animales, existe una modulación estadísticamente significativa, tanto para la diferencia entre la respuesta a estímulos desviados vs. estándar (condición), así como por estado (vigilia vs. sueño NREM). Por último, también existe una interacción entre los efecto de condición y estado en varias de las cortezas estudiadas en dos de los animales.

7.5.5. Respuesta de omisión durante la vigilia y el sueño NREM

Los resultados de la respuesta de omisión se muestran en la figura 7.10. En el animal Neg durante la vigilia, se observa una diferencia en la respuesta al estímulo de omisión y el control con sentido positivo en el tiempo correspondiente a la omisión del quinto sonido. La respuesta se observa en ambos núcleos talámicos, y en todas las cortezas con excepción de cortezas prefrontales y motora primaria derechas. La duración total de la respuesta de omisión puede alcanzar una duración entre 100 y 190 ms pero solo una pequeña área de 15

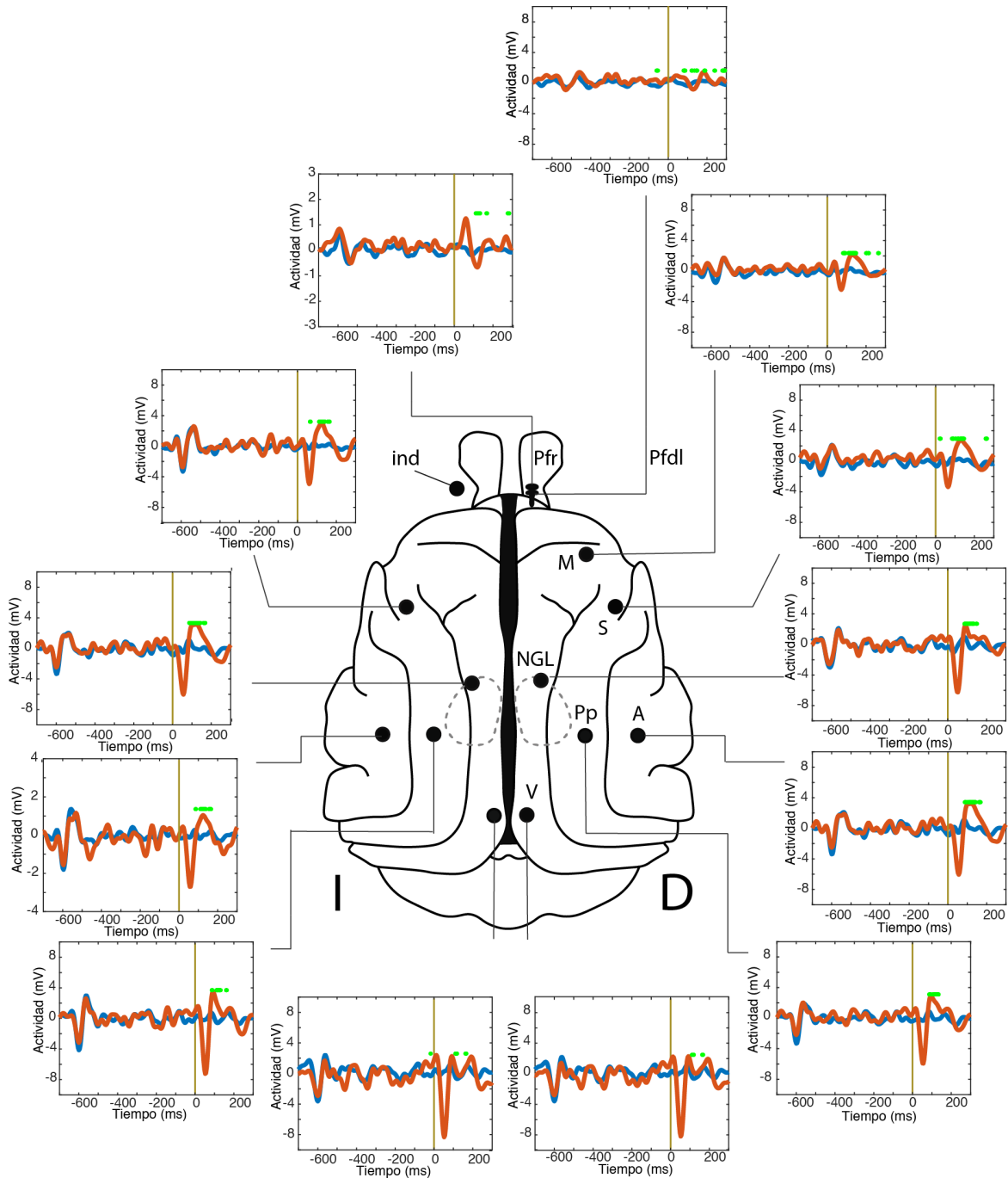


Figura 7.7 Efecto Local en el gato Neg. La figura muestra los ERPs registrados en el gato en estado de vigilia, obtenidos utilizando el paradigma Global Local. Los ERPs obtenidos en respuesta a estímulos estándar se muestran en azul, y en respuesta a estímulos desviados, en rojo. Se muestra el promedio de 900 ensayos. Se puede observar una diferencia entre desviado y estándar que representa la señal de error que en este caso corresponde al Efecto Local. El tiempo cero representa el inicio del estímulo. La línea verde indica la significancia estadística $p < 0,05$. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; NGL = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia.

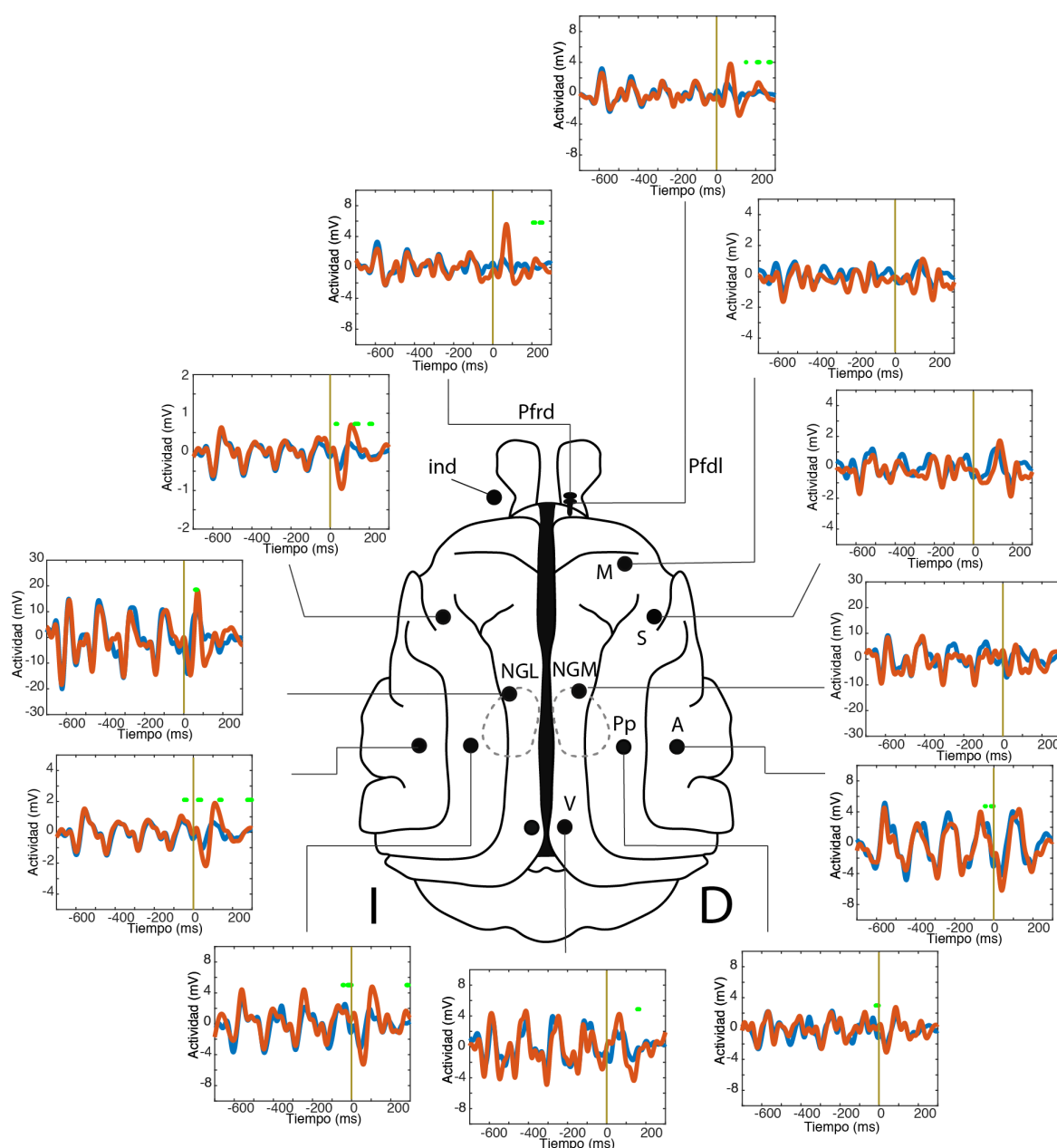


Figura 7.8 Efecto Local en el gato Nim. La figura muestra los ERPs registrados en el gato en estado de vigilia, obtenidos utilizando el paradigma Global Local. Los ERPs obtenidos en respuesta a estímulos estándar se muestran en azul, y en respuesta a estímulos desviados, en rojo. Se muestra el promedio de 900. Se puede observar una diferencia entre desviado y estándar que representa la negatividad de desajuste o MMN. El tiempo cero representa el inicio del estímulo. La línea verde indica la significancia estadística $p < 0,05$. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; NGL = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia.

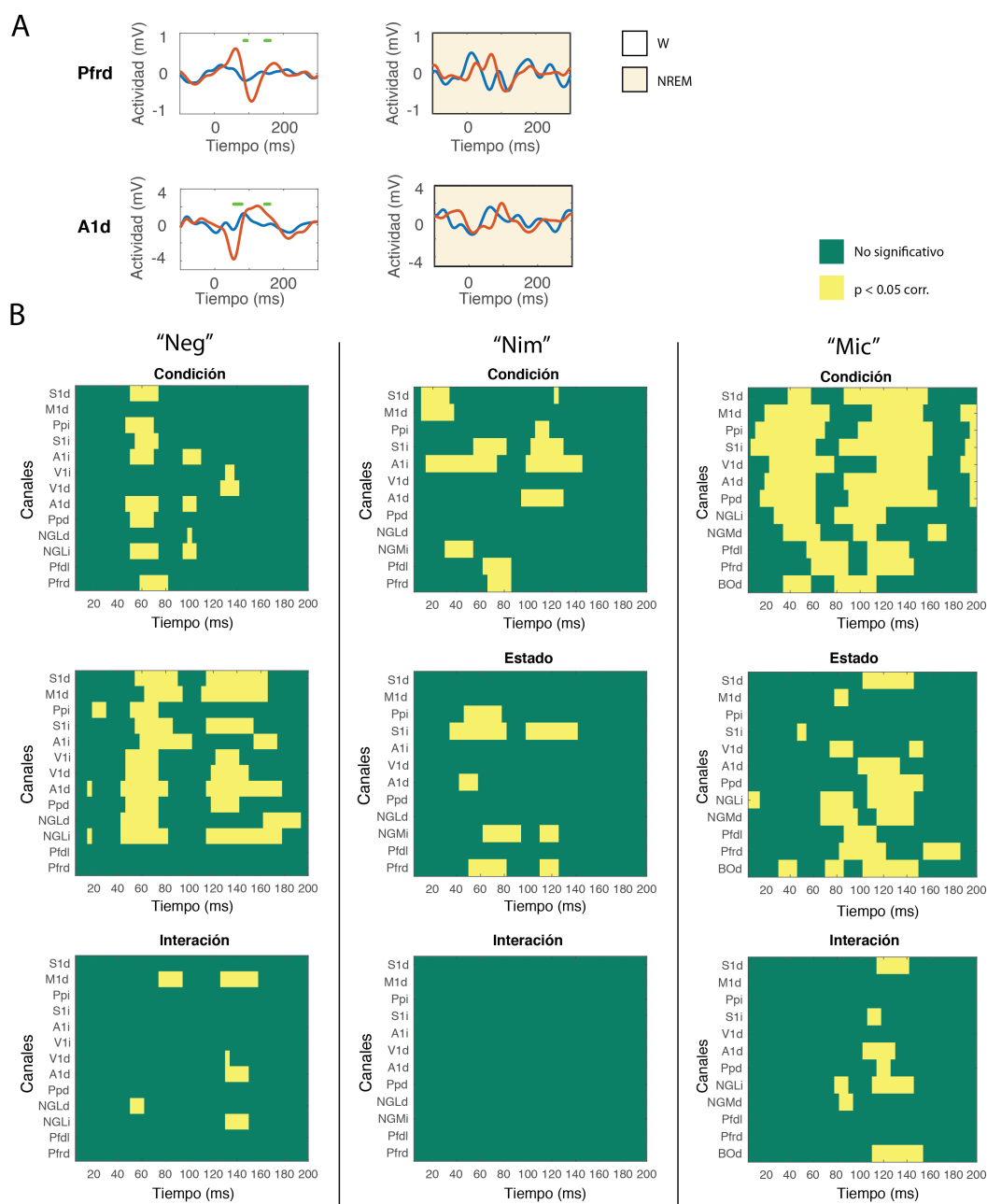


Figura 7.9 Efecto Local durante el sueño NREM. En (A) se muestran ejemplos de los ERPs obtenidos en el gato Neg en dos cortezas representativas. El color rojo corresponde a la respuesta al estímulo desviado y el azul al estándar (900 ensayos). La línea verde representa la significancia estadística medida mediante test de t con un nivel de significancia de 0,05. En fondo blanco se muestra los ERPs durante el estado de W y con fondo beige durante el sueño NREM. En (B) se muestra el análisis estadístico de la modulación del Efecto Local para todas las cortezas para los tres animales. En color amarillo se muestran los valores de $p < 0,05$ corregido por comparaciones múltiples, para la condición (desviado vs. estándar), el estado (W vs. sueño NREM) y la interacción entre ambos, para todas las cortezas. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V1 = corteza visual primaria; NGL = núcleo geniculado lateral; NGM = núcleo geniculado medial; S1 = corteza somatosensorial primaria; M1 = corteza motora primaria; A1 = corteza auditiva primaria.

ms se diferencia significativamente del control. En el estado de sueño NREM no se observa diferencia significativa entre la condición de omisión desviada y control.

Los resultados del análisis estadístico para todas las cortezas se presentan en la figura 7.10 B. Se realizó un modelo multinivel para estudiar la modulación por estado, por condición y también se estudió la interacción entre ambos en la ventana de interés de 0 a 200 ms. En la figura se aprecia que para el gato Neg, existe una modulación estadísticamente significativa para el estado (vigilia vs. sueño NREM), pero dicha diferencia está presente sólo en 3 cortezas cuando se compara la condición (respuesta a estímulos desviados vs. control). También existe una interacción entre los efecto de condición y estado en varias de las cortezas estudiadas.

En los gatos Nim y Mic, no se obtuvo una respuesta de omisión clara en los ERPs (ver apéndice, figura A.2 y A.3).

7.6. Discusión

En este trabajo describimos los correlatos neurales de predicción generadas por dos paradigmas Oddball: Roving y Global Local. Evidenciamos que las señales de error para ambos paradigmas estudiados (MMN y Efecto Local) no se registran exclusivamente en la corteza auditiva sino que también se evidencian en cortezas posteriores. Posteriormente estudiamos cómo estos correlatos se modulan durante el sueño NREM y REM. En acuerdo con nuestra hipótesis, en nuestros resultados se evidencia una reducción significativa tanto en la amplitud del MMN como en el Efecto Local durante la fase NREM del sueño, aunque no desaparece por completo. En la etapa de sueño REM, se registra una reducción significativa en la amplitud del MMN en ambos animales. El Efecto Local no fue estudiado durante el sueño REM. Por último, estudiamos también el efecto de omisión y cómo este es modulado durante el sueño NREM. Obtuvimos una respuesta de omisión clara en uno de los tres gatos y evidenciamos que ésta disminuye significativamente durante el sueño NREM.

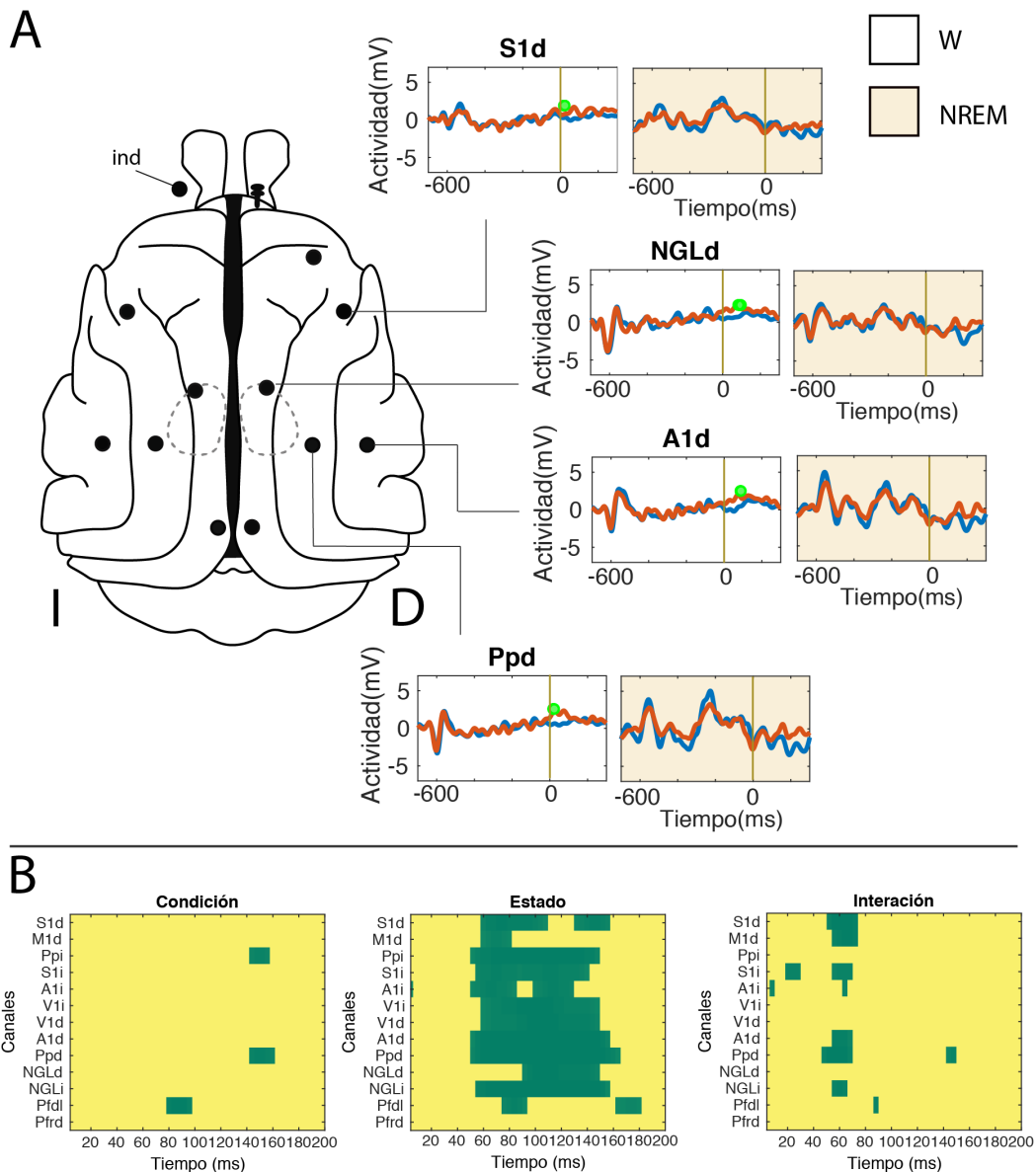


Figura 7.10 Efecto de omisión en el gato Neg durante la vigilia y el sueño NREM. (A) En fondo blanco se muestra los ERPs durante el estado de W (3210 ensayos control y 654 con omisión) y con fondo beige durante el sueño NREM (1288 ensayos control y 345 con omisión). En (B) Se muestra el análisis estadístico de la modulación del Efecto de omisión para todas las cortezas y para ambos animales. Se utilizaron 345 ensayos para cada grupo. En color verde se muestran los valores de $p < 0,05$ para la condición (desviado vs. estándar), el estado (W vs. sueño NREM) y la interacción entre ambos, para todas las cortezas. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V1 = corteza visual primaria; NGL = núcleo geniculado lateral; NGM = núcleo geniculado medial; S1 = corteza somatosensorial primaria; M1 = corteza motora primaria; A1 = corteza auditiva primaria; ref, ubicación del electrodo de referencia. La letra I indica el lado izquierdo y la letra D el lado derecho. La letra “d” indica la corteza derecha y la letra “i” indica la corteza izquierda.

7.6.1. Descripción de la señal de error en nuestro modelo experimental

Este trabajo incluyó la puesta a punto de la técnica de paradigmas cognitivos en gatos con implantes polisomnográficos crónicos. Aunque abordajes simples para el estudio de los ERPs han sido utilizados en el gato desde la década de los 80 [34, 107, 104], en la actualidad contamos con nuevos paradigmas cognitivos más complejos programados en matlab y con herramientas de análisis de datos más avanzadas.

Al graficar las respuestas de la señal de error generada por ambos paradigmas en todas las cortezas cerebrales, se observó que ésta está presente en todas las áreas corticales y tálamos. Observamos que tanto la amplitud del MMN como del Efecto Local se incrementa progresivamente en sentido anteroposterior, siendo mínima en las cortezas prefrontales, que se encuentran más cercanas al electrodo de referencia (seno frontal). Esto se explicaría porque la diferencia de voltaje depende de la distancia (por mayor resistencia entre electrodos). A mayor resistencia, mayor diferencia de potencial, explicando la mayor amplitud en las cortezas visuales. Para confirmarlo realizamos una rereferenciación contra la media de la señal de todos los electrodos, donde se observa claramente que las señales registradas en las cortezas frontales se ven amplificadas y las posteriores se ven reducidas (ver ejemplo en apéndice, Figura A.1).

La mayoría de los trabajos reportan el Efecto Local se debe a la activación de cortezas auditivas y cortezas frontales, en algunos casos es porque los electrodos están implantados en esas localizaciones y no presentaban electrodos implantados en otras regiones. Y en otros casos esta localización está dada por un análisis de reconstrucción de las fuentes que no tiene tanta resolución espacial como los electrodos intracraneales [9, 27, 134, 94, 146, 136, 40]. En cuanto al MMN, Hari y cols. (1984) mostraron por primera vez mediante MEG que el MMN es generado en la corteza auditiva [52]. Luego, usando fMRI y EEG, se descubrió que las regiones frontales también están involucradas en la generación del MMN [2, 97]. Recientemente se ha descrito que en la base de la generación del MMN auditivo se encuentra

un bucle de circuito neural dependiente del hipocampo (corteza auditiva-corteza entorrinal-circuito neural del hipocampo)[142].

Ningún trabajo sugiere la participación de la corteza visual u otras cortezas posteriores en la función de predicción de errores. Sin embargo, trabajos más recientes plantean que los mecanismos predictivos no son sólo propiedades inherentes a microcircuitos en el cerebro, sino que también se ha visto que encuentran su expresión a través la conectividad cortical [60]. Se ha propuesto que regiones conectadas en la corteza interactúan recurrentemente en un esfuerzo conjunto para encontrar un modelo del mundo que explique mejor las entradas sensoriales [62]. Además, otros trabajos han indicado que la conectividad talamocortical, corticocortical y de la ínsula auditiva puede contribuir a la generación de MMN [48, 64, 68].

7.6.2. MMN y Efecto Local durante el sueño

Cuando se presenta una secuencia de sonidos el cerebro actúa como un predictor que extrae las regularidades en la probabilidad de transición entre los sonidos y detecta las desviaciones inesperadas de estas regularidades. ¿Cómo es modulado este mecanismo durante el sueño?

En acuerdo con nuestra hipótesis, en nuestros resultados se evidencia una reducción significativa en el MMN durante la fase NREM del sueño, aunque no desaparece por completo. Varios trabajos en seres humanos [6, 5, 33, 35, 74, 75, 92, 108, 117, 138] y en menor número en animales [34, 91] han estudiado la señal de error durante el sueño utilizando distintos paradigmas [123]. Consistentemente con nuestros resultados, en algunos estudios encontraron que la respuesta MMN persiste durante el sueño NREM [108], mientras que en otros dicha respuesta no está presente [74, 75].

En la etapa de sueño REM, se registra una reducción significativa en el MMN en dos de los animales. En el caso del gato Neg, no se encuentra significancia estadística entre el estímulo desviado y el estándar durante el sueño REM. Por otro lado, en el gato Nim, se

observa que persiste un pequeño MMN que tiene significancia estadística en varias áreas corticales. Esto es consistente con algunos trabajos previos en donde algunos muestran que el MMN persiste durante esta etapa [74, 117], mientras que otros reportan que el MMN desaparece durante el sueño REM [93, 75]. Tanto durante el sueño REM como el NREM, se evidencia una modulación por condición y por estado, con interacciones significativas al compararse con el estado de vigilia.

De manera análoga a lo revelado con el MMN y consistentemente con nuestra hipótesis, también se observa una modulación en el Efecto Local durante el sueño. Recordamos que en el Efecto Local, a diferencia del MMN, se ha sustraído el Efecto Global (ver métodos) por lo cual sería una señal más pura (sin contaminación de señales de otros niveles jerárquicos de predicción) [9].

En este trabajo se constata que la respuesta obtenida en el estado de vigilia experimenta cambios sustanciales tanto en su forma como en su amplitud durante el sueño NREM. En nuestros resultados, el Efecto Local se reduce pero también se puede evidenciar que persiste sin cambios significativos en algunas cortezas durante el sueño. Esto podría explicarse por que el fenómeno de habituación podría estar disminuido durante el sueño NREM [120] y no a una falla en el fenómeno de *top-down*. Sin embargo, en nuestro experimento realizamos una manipulación específica para descartar dicha posibilidad, que es la omisión del sonido y será discutida posteriormente.

El análisis estadístico más fino de la ventana de los primeros 200 ms luego del inicio del quinto sonido muestra que la diferencia entre la respuesta a estímulos desviados vs. estándar entre 40 y 80 ms, aparece en la mayoría de las cortezas estudiadas. Sin embargo, la modulación por estado en esa misma ventana temporal es menos consistente entre cortezas. También se evidencia que el efecto de estado entre 120 y 140 ms es también consistente entre cortezas, aunque el efecto de la condición en esa ventana temporal no lo es.

Por último, existe una interacción entre los efectos de condición y estado, aunque este presenta gran variabilidad entre cortezas y es menor en el gato Nim. Este tipo de análisis estadístico y la interacción entre la condición (desviado vs. estándar) y estado (vigilia vs sueño NREM), del Efecto Local ni tampoco del MMN, se han reportado hasta la fecha.

Existen actualmente dos publicaciones sobre el Efecto Local durante el sueño, ambos llevadas a cabo en seres humanos [120, 13]. Strauss y col. (2015) utilizaron una versión modificada del paradigma Global Local, en el cual manipularon la adaptación introduciendo vocales alternantes como estándar además de las secuencias utilizadas en el paradigma original, y reportan que el mecanismo de adaptación permanece durante el sueño mientras que el error de predicción desaparece [120].

7.6.3. Respuesta de omisión

Wacongne y col. (2011) propusieron que el efecto de omisión representa un test clave del sistema de predicción activo en el cerebro. El efecto de omisión fue estudiando hasta la fecha en seres humanos [105, 140, 10, 136, 111] mediante EEG y también MEG aunque no durante el sueño. Nuestros resultados muestran que mientras la respuesta de MMN puede observarse durante el sueño, el efecto de omisión, que representa la predicción pura *top-down*, no se evidencia durante el sueño NREM. Esto sugiere que este mecanismo de predicción puede no estar presente durante el sueño.

Esto sugiere que este mecanismo de predicción puede no estar presente durante el sueño. Chennu (2016) estudió la respuesta de omisión utilizando EEG y MEG en humanos y encontró un efecto de omisión significativo entre 150-200 ms en los ERPs, tanto en condiciones de atención como sin atención, pero este efecto fue menor en ausencia de atención. No se observó un efecto significativo utilizando MEG. Chennu et al. (2016) utilizaron el Modelo Causal Dinámico (MCD) para estudiar esta respuesta computacionalmente. Según la teoría de la codificación predictiva, una respuesta a la ausencia de un estímulo esperado reflejaría

la fuerza de la predicción *top-down*. En contraste con el Efecto Local, donde las respuestas *bottom-up* se generan en la corteza auditiva primaria, la respuesta de omisión (*top-down*) se generaría en cortezas de alto orden, lo cual se confirmó utilizando MCD con modelos que incluyen tres localizaciones: circunvoluciones frontales inferiores (CFI), circunvoluciones temporales superiores (CTS) y A1. Para la respuesta de omisión, el modelo ganador fue un modelo frontotemporal simétrico con entradas sensoriales en CFI, mientras que para el Efecto Local, el modelo comprende entradas bilaterales en A1, con conectividad intrínseca en A1, e incluye un nodo en CFI derecho [28]. Este mismo modelo también resultó ganador para MMN en otros estudios que utilizaron diseños experimentales similares [47, 48].

7.6.4. Limitaciones

Una limitante de este trabajo es que los resultados obtenidos en este experimento provienen de tres animales. Sin embargo, el diseño experimental utilizado está diseñado para sujetos individuales por lo cual permite extraer conclusiones por sujeto. Además, en cada uno de ellos se realizaron gran cantidad de ensayos (alrededor de mil ensayos por animal) lo que hace que los resultados obtenidos sean confiables y robustos. Sin embargo, en este caso dado que hay gran variabilidad en los resultados obtenidos entre animales, sobre todo en el efecto de omisión, se requerirá un mayor número de animales para confirmar nuestras hipótesis.

7.7. Conclusiones

Nuestros resultados preliminares muestran que el MMN y el Efecto Local son moduladas durante el sueño de forma diferente en las distintas regiones cerebrales. Si bien estos se reducen, no desaparecen completamente. Sin embargo, el efecto de omisión que representa el

efecto *top-down* puro no se evidencia. Esto sugiere que el mecanismo de predicción auditiva está reducido durante el sueño.

Capítulo 8

Discusión general y perspectivas

8.1. Síntesis y discusión general de los resultados

En este capítulo se sintetizan los resultados obtenidos en esta tesis y luego cuáles son los aportes generados por este trabajo.

En este trabajo estudiamos como es la actividad cognitiva durante distintos estados de conciencia naturales (vigilia, LS, SWS y sueño REM) o alterados por drogas psicotrópicas (dosis sub-anestésica de ketamina, atropina y escopolamina) en el gato. Para esto utilizamos dos aproximaciones experimentales: 1. El estudio de la dinámica de la complejidad del ECoG en todos los estados mencionados. 2. El estudio de los correlatos neurales de las predicciones auditivas utilizando potenciales evocados cognitivos durante la vigilia, el sueño REM y NREM.

Al medir la CLZ, revelamos un patrón homogéneo durante el sueño en las cortezas y tálamos. La CLZ disminuye durante el LS, disminuye aún más durante el sueño NREM y presenta un nivel similar a la vigilia durante el sueño REM. Utilizando la misma medida, repetimos el análisis bajo los efectos de dosis sub-anestésicas de ketamina, y de los anti-colinérgicos muscarínicos atropina y escopolamina; estas drogas producen una marcada alteración de la conciencia que en seres humanos se considera una psicosis tóxica [17].

Patrones diferentes aparecen en los distintos casos. Para la atropina y escopolamina la CLZ disminuye homogéneamente en todas las cortezas, en forma similar a lo que ocurre en SWS, mientras que durante el efecto de ketamina la complejidad varía dependiendo de la corteza estudiada; un aumento se observa en algunas regiones (corteza prefrontal y auditiva), mientras que una disminución se observa en otras áreas (corteza parietal posterior). Durante la vigilia y bajo ketamina también analizamos la complejidad bajo estímulos simples, y evidenciamos que la complejidad aumenta con la estimulación sensorial en vigilia pero no bajo el efecto de la droga.

Por lo tanto, no todos los estados de conciencia alterados presentan una diferencia de modulación de la complejidad neural en las distintas regiones corticales. Es decir, que si bien hay un cambio del estado general de conciencia que es un cambio global, a nivel cortical la CLZ puede cambiar de manera local. En el caso del sueño los cambios son de forma armoniosa, mientras que en el caso de la ketamina el efecto es disociado.

Información complementaria fue obtenida al analizar los ERPs. En este tipo de abordaje se promedian las respuestas relacionadas a evento y la medida analizada es la diferencia de voltaje entre el electrodo de prueba y el de referencia. Si bien es una medida computacionalmente más simple, tiene gran resolución temporal y es especialmente útil para estudiar funciones cognitivas. En este trabajo utilizamos dos correlatos neurales de las predicciones auditivas, el MMN y el Efecto Local. Ambas correlatos neurales pueden registrarse en varias regiones cerebrales y no exclusivamente en la red auditiva. Sin embargo, en estado de vigilia puede observarse que el procesamiento es diferente en las distintas regiones. Esto puede evidenciarse al comparar la corteza prefrontal rostral y la corteza parietal posterior, en la que no sólo las formas de los potenciales son diferentes sino que al comparar ambas localizaciones la respuesta tiene incluso polaridades opuestas. En trabajos anteriores, se han focalizado en evidenciar si la señal de error está reducida o aumentada durante el sueño. En este trabajo demostramos que durante el sueño, no sólo hay una disminución en la señal de error, sino

que esta disminución es inhomogénea en las distintas regiones cerebrales y además que en algunas cortezas existe una interacción entre el Efecto Local o MMN y el estado de sueño. En algunas regiones hay un cambio de polaridad de la respuesta por lo cual se infiere que las fuentes se invierten. Esto se puede interpretar como una reconfiguración en el procesamiento de la red local al cambiar de estado.

Por último, estos datos aportan información relevante respecto a la hipótesis del cerebro entrópico [22, 20]. En esta hipótesis se plantea que en el estado psicodélico habría un aumento global de entropía y por lo tanto de la complejidad cerebral global. Sin embargo, nuestros resultados muestran que este aumento no es global sino heterogéneo por lo cual agrega detalle que podría ser útil en la reformulación de los supuestos teóricos.

El sueño es un estado en el que la conciencia se altera naturalmente y ocurren tanto en gatos como en seres humanos. Esto facilita el estudio del procesamiento de información en un estado de conciencia alterada, el cual es relativamente poco riesgoso y más fácil de estudiar en una primera etapa, y que posteriormente abre la posibilidad de comparación con otros estados alterados de conciencia, importantes en el área médica (ej. efecto de drogas y patologías).

8.2. Perspectivas

8.2.1. CLZ durante el sueño

Si bien parte de los resultados presentados se encuentran publicados, los resultados presentados en esta tesis forman parte de un proyecto más grande que se extiende más allá de mi doctorado y está preregistrado en OSF (<https://osf.io/tfjwg>). Por lo tanto, la principal perspectiva es continuar con el proyecto. Allí se prevee: la comparación de los registros intra y extracraneales; la comparación de la CLZ durante el sueño con distintas tareas, Roving y Global Local, que presentan distinta complejidad; estudiar las diferencias en los efectos

utilizando otras medidas de complejidad como Entropía de Bines y de Ordinal Patterns, CLZ utilizando el algoritmo LZ76, LZ de permutación, o con nuevos métodos como CSER [84], etc.

8.2.2. CLZ y sustancias psicotrópicas

Es nuestro objetivo continuar con el estudio de la complejidad neural bajo el efecto de distintas drogas que alteran la conciencia y cómo son moduladas bajo estimulación con estímulos simples y paradigmas más complejos.

Contamos con datos preliminares de experimentos en los cuales presentamos los paradigmas Global Local y Roving bajo el efecto de escopolamina, y en colaboración también bajo el efecto del potenciador cognitivo modafinilo.

A su vez, contamos también con datos de dosis subanestésicas de ketamina realizados en ratas en los cuales podemos estudiar si estos resultados se replican en dicha especie, los cuales también tenemos posibilidad de contrastar con la actividad metabólica regional medida por microPET.

8.2.3. Predicciones auditivas

Tal cual lo hemos preregistrado en OSF (<https://osf.io/tfjwg>), proponemos continuar el estudio de los correlatos neurales de las predicciones auditivas.

En primero lugar, repetiremos el experimento en un mayor número de animales.

Luego, estudiaremos en más detalle la dinámica neural durante la señal de error para cada paradigma durante la vigilia y el sueño. Estudiaremos cuáles son las diferencias en las interacciones dentro de la red auditiva incluyendo el núcleo geniculado medial, la corteza auditiva primaria y la corteza prefrontal mediante análisis de conectividad funcional.

Bibliografía

- [1] Abásolo, D., Simons, S., Morgado da Silva, R., Tononi, G., and Vyazovskiy, V. (2015). Lempel-Ziv complexity of cortical activity during sleep and waking in rats. *Journal of Neurophysiology*, 113(7):2742–2752.
- [2] Alho, K. (1995). Cerebral generators of mismatch negativity (MMN) and its magnetic counterpart (MMNm) elicited by sound changes. *Ear Hearing*, 16(1):38–51.
- [3] Amargós-Bosch, M., López-Gil, X., Artigas, F., and Adell, A. (2006). Clozapine and olanzapine, but not haloperidol, suppress serotonin efflux in the medial prefrontal cortex elicited by phencyclidine and ketamine. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 9(5):565–573.
- [4] Andrillon, T., Poulsen, A. T., Hansen, L. K., L É Ger, D., and Kouider, S. (2016). Neural markers of responsiveness to the environment in human sleep. *Journal of Neuroscience*, 36(24):6583–6596.
- [5] Atienza, M., Cantero, J. L., and Escera, C. (2001). Auditory information processing during human sleep as revealed by event-related brain potentials. *Clinical neurophysiology*, 112(11):2031–2045.
- [6] Atienza, M., Cantero, J. L., and Gómez, C. M. (1997). The mismatch negativity component reveals the sensory memory during rem sleep in humans. *Neuroscience letters*, 237(1):21–24.
- [7] Baars, B. (1988). A cognitive theory of consciousness. cambridge universitypress.[anc, bjb, rnc](1993) how does a serial, integrated and very limited stream of consciousness emerge from a nervous system that is mostly unconscious, distributed, parallel and of enormous capacity? theoretical and experimental studies of consciousness. In *Ciba Foundation Symposium*, volume 174, page 282303.
- [8] Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. M., and Walker, S. C. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1).
- [9] Bekinschtein, T. A., Dehaene, S., Rohaut, B., Tadel, F., Cohen, L., and Naccache, L. (2009). Neural signature of the conscious processing of auditory regularities. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(5):1672–1677.
- [10] Bendixen, A., Schröger, E., and Winkler, I. (2009). I heard that coming: event-related potential evidence for stimulus-driven prediction in the auditory system. *Journal of Neuroscience*, 29(26):8447–8451.

- [11] Blain-Moraes, S., Lee, U., Ku, S., Noh, G., and Mashour, G. A. (2014). Electroencephalographic effects of ketamine on power, cross-frequency coupling, and connectivity in the alpha bandwith. *Front Syst Neurosci.*, 8:114.
- [12] Block, N. (1995). On a confusion about a function of consciousness. *Behavioral and Brain Sciences*, 18(2):227–247.
- [13] Blume, C., Niedernhuber, M., Spitschan, M., Slawik, H., Meyer, M., Bekinschtein, T., and Cajochen, C. (2022). Melatonin suppression does not automatically alter sleepiness, vigilance, sensory processing, or sleep. *Sleep*, 45(11):199.
- [14] Bradley, P. and Elkes, J. (1957). The effects of some drugs on the electrical activity of the brain. *Brain*, 80(1):77–117.
- [15] Bradley, P. and Key, B. (1958). The effect of drugs on arousal responses produced by electrical stimulation of the reticular formation of the brain. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 10(1):97–110.
- [16] Braun, A. R., Balkin, T., Wesenten, N., Carson, R. E., Varga, M., Baldwin, P., Selbie, S., Belenky, G., and Herscovitch, P. (1997). Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. an h2 (15) o pet study. *Brain: a Journal of Neurology*, 120(7):1173–1197.
- [17] Brunton, L. L., Chabner, B. A., and Knollmann, B. C. (2019). *Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw hill.
- [18] Buzsaki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford university press.
- [19] Canales-Johnson, A., Borges, A. F. T., Komatsu, M., Fujii, N., Fahrenfort, J. J., Miller, K. J., and Noreika, V. (2019). Broadband Signal Rather than Frequency-Specific Rhythms Underlies Prediction Error in the Primate Auditory Cortex. *bioRxiv*.
- [20] Carhart-Harris, R. L. (2018). The entropic brain - revisited. *Neuropharmacology*, 142:167–178.
- [21] Carhart-Harris, R. L., Kaelen, M., Bolstridge, M., Williams, T. M., Williams, L. T., Underwood, R., Feilding, A., and Nutt, D. J. (2016). The paradoxical psychological effects of lysergic acid diethylamide (LSD). *Psychological Medicine*, 46(7):1379–1390.
- [22] Carhart-Harris, R. L., Leech, R., Hellyer, P. J., Shanahan, M., Feilding, A., Tagliazucchi, E., Chialvo, D. R., and Nutt, D. (2014). The entropic brain: A theory of conscious states informed by neuroimaging research with psychedelic drugs. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8(20):1–22.
- [23] Carskadon, M. A., Dement, W. C., et al. (2005). Normal human sleep: an overview. *Principles and practice of sleep medicine*, 4(1):13–23.
- [24] Castro, S., Falconi, A., Chase, M., and Torterolo, P. (2013). Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. *European Journal of Neuroscience*, 37(8):1330–1339.

- [25] Castro-Zaballa, S., Cavelli, M., González, J., Monti, J., Falconi, A., and Torterolo, P. (2019). EEG dissociation induced by muscarinic receptor antagonists: Coherent 40 Hz oscillations in a background of slow waves and spindles. *Behavioural Brain Research*, 359(July):28–37.
- [26] Chen, X., Shu, S., and Bayliss, D. A. (2009). HCN1 channel subunits are a molecular substrate for hypnotic actions of ketamine. *Journal of Neuroscience*, 29(3):600–609.
- [27] Chennu, S., Noreika, V., Gueorguiev, D., Blenkmann, A., Kochen, S., Ibáñez, A., Owen, A. M., and Bekinschtein, T. A. (2013). Expectation and attention in hierarchical auditory prediction. *Journal of Neuroscience*, 33(27):11194–11205.
- [28] Chennu, S., Noreika, V., Gueorguiev, D., Shtyrov, Y., Bekinschtein, T. A., and Henson, R. (2016). Silent Expectations: Dynamic Causal Modeling of Cortical Prediction and Attention to Sounds That Weren't. *The Journal fo Neuroscience*, pages 8305–8316.
- [29] Clark, A. (2013). Whatever next? Predictive brains, situated agents, and the future of cognitive science. *Behavioral and Brain Sciences*, 36(3):181–204.
- [30] Conti, F., Minelli, A., Molnar, M., and Brecha, N. C. (1994). Cellular localization and laminar distribution of NMDAR1 mRNA in the rat cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 343(4):554–565.
- [31] Corallo, C. E., Whitfield, A., and Wu, A. (2009). Anticholinergic syndrome following an unintentional overdose of scopolamine. *Therapeutics and clinical risk management*, pages 719–723.
- [32] Corsi-Cabrera, M., Miró, E., del Río-Portilla, Y., Pérez-Garci, E., Villanueva, Y., and Guevara, M. (2003). Rapid eye movement sleep dreaming is characterized by uncoupled eeg activity between frontal and perceptual cortical regions. *Brain and Cognition*, 51(3):337–345.
- [33] Cote, K. A. (2002). Probing awareness during sleep with the auditory odd-ball paradigm. *International Journal of Psychophysiology*, 46(3):227–241.
- [34] Csépe, V., Karmos, G., and Molnar, M. (1987). Evoked potential correlates of stimulus deviance during wakefulness and sleep in cat—animal model of mismatch negativity. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 66(6):571–578.
- [35] Czisch, M., Wehrle, R., Stiegler, A., Peters, H., Andrade, K., Holsboer, F., and Sämann, P. G. (2009). Acoustic oddball during nrem sleep: a combined eeg/fmri study. *PloS one*, 4(8):e6749.
- [36] Dehaene, S. (2019). *La conciencia en el cerebro: descifrando el enigma de cómo el cerebro elabora nuestros pensamientos*. Siglo XXI Editores.
- [37] Dement, W. and Kleitman, N. (1957). The relation of eye movements during sleep to dream activity: an objective method for the study of dreaming. *Journal of Experimental Psychology*, 53(5):339.

- [38] Ebert, U., Siepmann, M., Oertel, R., Wesnes, K. A., and Kirch, W. (1998). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of scopolamine after subcutaneous administration. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 38(8):720–726.
- [39] Edelman, G. (2001). Consciousness: The remembered present. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 929:111–122.
- [40] El Karoui, I., King, J.-R., Sitt, J., Meyniel, F., Van Gaal, S., Hasboun, D., Adam, C., Navarro, V., Baulac, M., Dehaene, S., et al. (2015). Event-related potential, time-frequency, and functional connectivity facets of local and global auditory novelty processing: an intracranial study in humans. *Cerebral Cortex*, 25(11):4203–4212.
- [41] Farnes, N., Bjørn, E. J., Nilsen, A. S., Romundstad, L. G., and Storm, J. F. (2020). Increased signal diversity/complexity of spontaneous EEG, but not evoked EEG responses, in ketamine-induced psychedelic state in humans. *PLoS One*, 23.
- [42] Ferenets, R., Lipping, T., Anier, A., Jäntti, V., Melto, S., and Hovilehto, S. (2006). Comparison of entropy and complexity measures for the assessment of depth of sedation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 53(6):1067–1077.
- [43] Ferenets, R., Vanluchene, A., Lipping, T., and Heyse, B. (2007). Behavior of Entropy / Complexity Measures of the Electroencephalogram during Propofol-induced Sedation. *Anesthesiology*, 106(4):696–706.
- [44] Ferrer-Allado, T., Brechner, V. L., Dymond, A., Cozen, H., and Crandall, P. (1973). Ketamine-induced electroconvulsive phenomena in the human limbic and thalamic regions. *Anesthesiology*, 38(4):333–44.
- [45] Friston, K. (2008). Hierarchical models in the brain. *PLoS Comput Biol*.
- [46] Friston, K. (2010). The free-energy principle: A unified brain theory? *Nature Reviews Neuroscience*, 11(2):127–138.
- [47] Garrido, M. I., Friston, K. J., Kiebel, S. J., Stephan, K. E., Baldeweg, T., and Kilner, J. M. (2008). The functional anatomy of the mmn: a dcm study of the roving paradigm. *Neuroimage*, 42(2):936–944.
- [48] Garrido, M. I., Kilner, J. M., Kiebel, S. J., and Friston, K. J. (2009). Dynamic causal modeling of the response to frequency deviants. *Journal of Neurophysiology*, 101(5):2620–2631.
- [49] Giacobini, E. (1990). The cholinergic system in alzheimer disease. *Progress in Brain Research*, 84:321–332.
- [50] González, J., Cavelli, M., Mondino, A., Pascovich, C., Castro-Zaballa, S., Torterolo, P., and Rubido, N. (2019). Decreased electrocortical temporal complexity distinguishes sleep from wakefulness. *Scientific Reports*, 9(1):1–9.
- [51] Hamborg-Petersen, B., NIELSEN, M. M., and Thordal, C. (1984). Toxic effect of scopolamine eye drops in children. *Acta Ophthalmologica*, 62(3):485–488.

- [52] Hari, R., Hamalainen, M., Ilmoniemi, R., Kaukoranta, E., Reinikainen, K., Salminen, J., Alho, K., Naatanen, R., and Sams, M. (1984). Responses of the primary auditory cortex to pitch changes in a sequence of tone pips: neuromagnetic recordings in man. *Neuroscience Letters*, 50:127–132.
- [53] Harrison, N. L. and Simmonds, M. A. (1985). Quantitative studies on some antagonists of n-methyl d-aspartate in slices of rat cerebral cortex. *British Journal of Pharmacology*, 84(2):381–391.
- [54] Hipp, J. F. and Siegel, M. (2013). Dissociating neuronal gamma-band activity from cranial and ocular muscle activity in eeg. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7:338.
- [55] Höhn, C., Hahn, M. A., Lendner, J. D., and Hoedlmoser, K. (2024). Spectral slope and lempel–ziv complexity as robust markers of brain states during sleep and wakefulness. *Eneuro*, 11(3).
- [56] Homayoun, H. and Moghaddam, B. (2007). NMDA Receptor Hypofunction Produces Opposite Effects on Prefrontal Cortex Interneurons and Pyramidal Neurons. *J Neurosci.*, 27:11496–11500.
- [57] Huntley, G. W., Vickers, J. C., Janssen, W., Brose, N., Heinemann, S. F., and Morrison, J. H. (1994). Distribution and synaptic localization of immunocytochemically identified NMDA receptor subunit proteins in sensory-motor and visual cortices of monkey and human. *Journal of Neuroscience*, 14(6):3603–3619.
- [58] Ishizawa, Y., Ahmed, O. J., Patel, S. R., Gale, J. T., Sierra-Mercado, D., Brown, E. N., and Eskandar, E. N. (2016). Dynamics of propofol-induced loss of consciousness across primate neocortex. *Journal of Neuroscience*, 36(29):7718–7726.
- [59] Itil, T. M. (1969). Anticholinergic drug-induced sleep-like eeg pattern in man. *Psychopharmacologia*, 14(5):383–393.
- [60] Johnson, E., Kam, J., Tzovara, A., and Knight, R. (2017). Insights into human cognition from intracranial EEG: A review of audition, memory, internal cognition, and causality. *Physiology and Behavior*, 176(1):139–148.
- [61] Ketchum, J. S., Sidell, F. R., Crowell Jr, E. B., Aghajanian, G. K., and Hayes Jr, A. H. (1973). Atropine, scopolamine, and ditran: Comparative pharmacology and antagonists in man. *Psychopharmacologia*, 28(2):121–145.
- [62] Kok, P., and de Lange, F. P. (2015). Predictive coding in sensory cortex. In Forstmann, B. U. and Wagenmakers, E. J., editors, *An introduction to model-based cognitive neuroscience*, chapter 15, pages 221–244.
- [63] Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., and Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82(13).
- [64] Lakatos, P., O’Connell, M. N., Barczak, A., McGinnis, T., Neymotin, S., Schroeder, C. E., Smiley, J. F., and Javitt, D. C. (2020). The thalamocortical circuit of auditory mismatch negativity. *Biological Psychiatry*, 87(8):770–780.

- [65] Lakstygai, A. M., Kolesnikova, T. O., Khatsko, S. L., Zabegalov, K. N., Volgin, A. D., Demin, K. A., Shevyrin, V. A., Wappler-Guzzetta, E. A., and Kalueff, A. V. (2018). Dark classics in chemical neuroscience: atropine, scopolamine, and other anticholinergic deliriant hallucinogens. *ACS chemical neuroscience*, 10(5):2144–2159.
- [66] Langsjö, J., Maksimow, A., Salmi, E., Kaisti, K., Aalto, S., Oikonen, V., Hinkka, S., Aantaa, R., Sipilä, H., Viljanen, T., and Parkkola, R. (2005). S-ketamine anesthesia increases cerebral blood flow in excess of the metabolic needs in humans. *Anesthesiology*, 103(2):258–268.
- [67] Långsjö, J. W., Salmi, E., Kaisti, K. K., Aalto, S., Hinkka, S., Aantaa, R., Oikonen, V., Viljanen, T., Kurki, T., Silvanto, M., and Scheinin, H. (2004). Effects of Subanesthetic Ketamine on Regional Cerebral Glucose Metabolism in Humans. *Anesthesiology*, 100(5):1065–1071.
- [68] Lee, M., Sehatpour, P., Hoptman, M. J., Lakatos, P., Dias, E. C., Kantrowitz, J. T., Martinez, A. M., and Javitt, D. C. (2017). Neural mechanisms of mismatch negativity dysfunction in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 22(11):1585–1593.
- [69] Lee, T. S. and Mumford, D. (2003). Hierarchical Bayesian inference in the visual cortex. *Journal of the Optical Society of America A*, 20(7):1434.
- [70] Lee, U., Ku, S., Noh, G., Baek, S., Choi, B., and Mashour, G. A. (2013). Disruption of Frontal-Parietal Communication by Ketamine, Propofol, and Sevoflurane. *Anesthesiology*, 118:1264–1275.
- [71] Lempel, A. and Ziv, J. (1976). On the Complexity of Finite Sequences. *IEEE Transactions on Information Theory*, 22(1):75–81.
- [72] Li, D. and Mashour, G. A. (2019). Cortical dynamics during psychedelic and anesthetized states induced by ketamine. *NeuroImage*, 196:32–40.
- [73] Lindsley, D., Carpenter, R., Killam, E., and Killam, K. (1968). Eeg correlates of behavior in the cat. i. pattern discrimination and its alteration by atropine and lsd-25. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 24(6):497–513.
- [74] Loewy, D. H., Campbell, K. B., and Bastien, C. (1996). The mismatch negativity to frequency deviant stimuli during natural sleep. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 98(6):493–501.
- [75] Loewy, D. H., Campbell, K. B., de Lugt, D. R., Elton, M., and Kok, A. (2000). The mismatch negativity during natural sleep: intensity deviants. *Clinical Neurophysiology*, 111(5):863–872.
- [76] Longo, V. (1956). Effects of scopolamine and atropine on electroencephalographic and behavioral reactions due to hypothalamic stimulation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 116(2):198–208.
- [77] López-Gil, X., Jiménez-Sánchez, L., Campa, L., Castro, E., Frago, C., and Adell, A. (2019). Role of Serotonin and Noradrenaline in the Rapid Antidepressant Action of Ketamine. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(7):3318–3326.

- [78] Lorrain, D. S., Schaffhauser, H., Campbell, U. C., Baccei, C. S., Correa, L. D., Rowe, B., Rodriguez, D. E., Anderson, J. J., Varney, M. A., Pinkerton, A. B., Vernier, J. M., and Bristow, L. J. (2003). Group II mGlu receptor activation suppresses norepinephrine release in the ventral hippocampus and locomotor responses to acute ketamine challenge. *Neuropsychopharmacology*, 28(9):1622–1632.
- [79] Luyten, L., Nuyts, S., and Beckers, T. (2017). Low-dose systemic scopolamine disrupts context conditioning in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 31(6):667–673.
- [80] López-Gil X., Jiménez-Sánchez L., R. T. C. L. A. F. A. A. (2012). Importance of inter-hemispheric prefrontal connection in the effects of non-competitive NMDA receptor antagonists. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(7):945–956.
- [81] Maloney, K. J., Cape, E., Gotman, J., and Jones, B. (1997). High-frequency γ electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. *Neuroscience*, 76(2):541–555.
- [82] Mateos, D., Wennberg, R., Guevara Erra, R., and Perez Velazquez, J. (2017). Consciousness as a global property of brain dynamic activity. *Phys. Rev.*, E 96(062410).
- [83] Mateos, D. M., Guevara Erra, R., Wennberg, R., and Perez Velazquez, J. L. (2018). Measures of entropy and complexity in altered states of consciousness. *Cognitive Neurodynamics*, 12(1):73–84.
- [84] Mediano, P. A., Rosas, F. E., Luppi, A. I., Noreika, V., Seth, A. K., Carhart-Harris, R. L., Barnett, L., and Bor, D. (2023). Spectrally and temporally resolved estimation of neural signal diversity. *bioRxiv*, pages 2023–03.
- [85] Mediano, P. A. M., Rosas, F. E., Timmermann, C., Roseman, L., Nutt, D. J., Feilding, A., Kaelen, M., Kringelbach, M. L., Barrett, A. B., Seth, A. K., Muthukumaraswamy, S., Bor, D., and Carhart-Harris, R. L. (2020). Effects of external stimulation on psychedelic state neurodynamics. *bioRxiv*, page 2020.11.01.356071.
- [86] Miller, A. M., Frick, B. J., Smith, D. M., Radulovic, J., and Corcoran, K. A. (2017). Network oscillatory activity driven by context memory processing is differently regulated by glutamatergic and cholinergic neurotransmission. *Neurobiology of learning and memory*, 145:59–66.
- [87] Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., and Daly, D. (1997). Activation of Glutamatergic Neurotransmission by Ketamine: A Novel Step in the Pathway from NMDA Receptor Blockade to Dopaminergic and Cognitive Disruptions Associated with the Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 17(8):2921–2927.
- [88] Näätänen, R., Gaillard, A. W., and Mäntysalo, S. (1978). Early selective-attention effect on evoked potential reinterpreted. *Acta Psychologica*, 42(4):313–329.
- [89] Narita, M., Yoshizawa, K., Aoki, K., Takagi, M., Miyatake, M., and Suzuki, T. (2001). A putative sigma1 receptor antagonist ne-100 attenuates the discriminative stimulus effects of ketamine in rats. *Addiction Biology*, 6(4):373–376.
- [90] Nilsen, A. S., Juel, B. E., and Storm, J. F. (2019). Measures of states of consciousness during attentional and cognitive load. *bioRxiv*, pages 0–39.

- [91] Nir, Y., Vyazovskiy, V., Cirelli, C., Banks, M., and Tononi, G. (2013). Auditory responses and stimulus-specific adaptation in rat auditory cortex are preserved across NREM and REM sleep. *Cereb Cortex*, 25(5):1362–78.
- [92] Nittono, H., Momose, D., and Hori, T. (2001). The vanishing point of the mismatch negativity at sleep onset. *Clinical neurophysiology*, 112(5):732–739.
- [93] Nordby, H., Hugdahl, K., Stickgold, R., Bronnick, K. S., and Hobson, J. A. (1996). Event-related potentials (erps) to deviant auditory stimuli during sleep and waking. *Neuroreport: An International Journal for the Rapid Communication of Research in Neuroscience*.
- [94] Nourski, K. V., Steinschneider, M., Rhone, A. E., Kawasaki, H., Howard, M. A., and Banks, M. I. (2018). Auditory predictive coding across awareness states under anesthesia: an intracranial electrophysiology study. *Journal of Neuroscience*, 38(39):8441–8452.
- [95] Nuotto, E. (1983). Psychomotor, physiological and cognitive effects of scopolamine and ephedrine in healthy man. *European journal of clinical pharmacology*, 24:603–609.
- [96] Oizumi, M., Albantakis, L., and Tononi, G. (2014). From the Phenomenology to the Mechanisms of Consciousness: Integrated Information Theory 3.0. *PLoS Computational Biology*, 10(5).
- [97] Opitz, B., Rinne, T., Mecklinger, A., Von Cramon, D., and Schroger, E. (2002). Differential contribution of frontal and temporal cortices to auditory change detection: fMRI and ERP results. *Neuroimage*, 15:167–174.
- [98] Ostfeld, A., Machne, X., and Unna, K. (1960). The effects of atropine on the electroencephalogram and behavior in man. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 128(3):265–272.
- [99] Pal, D., Li, D., Dean, J. G., Brito, M. A., Liu, T., Fryzel, A. M., Hudetz, A. G., and Mashour, G. A. (2020). Level of consciousness is dissociable from electroencephalographic measures of cortical connectivity, slow oscillations, and complexity. *Journal of Neuroscience*, 40(3):605–618.
- [100] Parras, G. G., Nieto-Diego, J., Carbajal, G. V., Valdés-Baizabal, C., Escera, C., and Malmierca, M. S. (2017). Neurons along the auditory pathway exhibit a hierarchical organization of prediction error. *Nature communications*, 8(1):2148.
- [101] Pascovich, C., Castro-zaballa, S., Mediano, P. A. M., Bor, D., Canales-Jhonson, A., Torterolo, P., and Bekinschtein, A. (2022). Ketamine and sleep modulate neural complexity dynamics in cats. *European Journal of Neuroscience*, 55(6):1584–1600.
- [102] Peck, T. and Harris, B. (2021). *Pharmacology for anaesthesia and intensive care*. Cambridge University Press.
- [103] Picard, F. and Friston, K. (2014). Predictions, perception, and a sense of self. *Neurology*, 83(12):1112–1118.

- [104] Pincze, Z., Lakatos, P., Rajkai, C., Ulbert, I., and Karmos, G. (2001). Separation of mismatch negativity and the n1 wave in the auditory cortex of the cat: a topographic study. *Clinical Neurophysiology*, 112(5):778–784.
- [105] Raij, T., McEvoy, L., Mäkelä, J. P., and Hari, R. (1997). Human auditory cortex is activated by omissions of auditory stimuli. *Brain research*, 745(1-2):134–143.
- [106] Rosenzweig, M. R., Krech, D., and Bennett, E. L. (1959). Acetylcholine metabolism and behavior of rats. *Science*, 129(3341):62–64.
- [107] Ruusuvirta, T., Korhonen, T., Penttonen, M., Arikoski, J., and Kivirikko, K. (1995). Hippocampal event-related potentials to pitch deviances in an auditory oddball situation in the cat: experiment i. *International journal of psychophysiology*, 20(1):33–39.
- [108] Sabri, M., Labelle, S., Gosselin, A., and Campbell, K. B. (2003). Effects of sleep onset on the mismatch negativity (mmn) to frequency deviants using a rapid rate of presentation. *Cognitive Brain Research*, 17(1):164–176.
- [109] Sahakian, B. J. (1988). Cholinergic drugs and human cognitive performance. In *Handbook of Psychopharmacology: Volume 20 Psychopharmacology of the Aging Nervous System*, pages 393–424. Springer.
- [110] Sanford, L. D., Suchecki, D., and Meerlo, P. (2015). Stress, arousal, and sleep. *Sleep, neuronal plasticity and brain function*, pages 379–410.
- [111] SanMiguel, I., Widmann, A., Bendixen, A., Trujillo-Barreto, N., and Schröger, E. (2013). Hearing silences: human auditory processing relies on preactivation of sound-specific brain activity patterns. *Journal of Neuroscience*, 33(20):8633–8639.
- [112] Sannita, W. G., Maggi, L., and Rosadini, G. (1987). Effects of scopolamine (0.25–0.75 mg im) on the quantitative eeg and the neuropsychological status of healthy volunteers. *Neuropsychobiology*, 17(4):199–205.
- [113] Sauder, C. L., Shalansky, K. F., and Hewko, R. A. (1994). Transdermal scopolamine and transient psychosis. *Canadian Journal of Hospital Pharmacy*, 47(2).
- [114] Schartner, M., Seth, A., Noirhomme, Q., Boly, M., Bruno, M. A., Laureys, S., and Barrett, A. (2015). Complexity of multi-dimensional spontaneous EEG decreases during propofol induced general anaesthesia. *Plos One*, 10(8):1–21.
- [115] Schartner, M. M., Carhart-Harris, R. L., Barrett, A. B., Seth, A. K., and Muthukumaraswamy, S. D. (2017). Increased spontaneous MEG signal diversity for psychoactive doses of ketamine, LSD and psilocybin. *Scientific Reports*, 7:1–12.
- [116] Schwartz, M. S., Viden, S., and Scott, D. (1974). Effects of ketamine on the electroencephalograph. *Anaesthesia*, 29(2):135–140.
- [117] Sculthorpe, L. D., Ouellet, D. R., and Campbell, K. B. (2009). Mmn elicitation during natural sleep to violations of an auditory pattern. *Brain research*, 1290:52–62.
- [118] Seamans, J. (2008). Losing inhibition with ketamine. *Nature Chemical Biology*, 4(2):91–93.

- [119] Stolp, L., Mandke, K., Mediano, P., Gellersen, H. M., Bekinschtein, T. A., and Bor, D. (2022). Identifying the neural correlates of cognitive reserve. *ASSC 25 Conference*.
- [120] Strauss, M., Sitt, J. D., King, J. R., Elbaz, M., Azizi, L., Buiatti, M., Naccache, L., van Wassenhove, V., and Dehaene, S. (2015). Disruption of hierarchical predictive coding during sleep. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(11):E1353–62.
- [121] Tagliazucchi, E., Carhart-Harris, R., Leech, R., Nutt, D., and Chialvo, D. R. (2014). Enhanced repertoire of brain dynamical states during the psychedelic experience. *Human Brain Mapping*, 35(11):5442–5456.
- [122] Timmermann, C., Roseman, L., Schartner, M., Milliere, R., Williams, L. T., Erritzoe, D., Muthukumaraswamy, S., Ashton, M., Bendrioua, A., Kaur, O., Turton, S., Nour, M. M., Day, C. M., Leech, R., Nutt, D. J., and Carhart-Harris, R. L. (2019). Neural correlates of the DMT experience assessed with multivariate EEG. *Scientific Reports*, 9(1):1–13.
- [123] Tivadar, R. I., Knight, R. T., and Tzovara, A. (2021). Automatic Sensory Predictions: A Review of Predictive Mechanisms in the Brain and Their Link to Conscious Processing. *Front Hum Neurosci.*, 15(702520).
- [124] Tononi, G. (2004). An information integration theory of consciousness. *BMC Neuroscience*, 5:1–22.
- [125] Tononi, G. (2008). Consciousness as integrated information: a provisional manifesto. *The Biological Bulletin*, 215(3):216–242.
- [126] Tononi, G. (2010). Information integration: its relevance to brain function and consciousness. *Archives Italiennes de Biologie*, 148(3):299–322.
- [127] Tononi, G. (2014). The Brain’s Big Bang A Universe of Consciousness: How Matter Becomes Imagination. (January 2001).
- [128] Tononi, G., Boly, M., Massimini, M., and Koch, C. (2016). Integrated information theory: From consciousness to its physical substrate. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(7):450–461.
- [129] Tononi, G. and Edelman, G. M. (1998). Consciousness and complexity. *Science*, 282(5395):1846–1851.
- [130] Tononi, G. and Koch, C. (2015). Consciousness: here, there and everywhere? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1668):20140167.
- [131] Torterolo, P., Monti, J. M., and Pandi-Perumal, S. R. (2016). Neuroanatomy and neuropharmacology of sleep and wakefulness. *Synopsis of Sleep Medicine, Apple Academic Press, Oakville, Canada*.
- [132] Torterolo, P. and Vanini, G. (2010). New concepts in relation to generating and maintaining arousal. *Revista de Neurologia*, 50(12):747–758.
- [133] Torterolo, P., Yamuy, J., Sampogna, S., Morales, F. R., and Chase, M. H. (2003). Hypocretinergic Neurons are Primarily Involved in Activation of the Somatomotor System. *Sleep*, 26(1):25–28.

- [134] Uhrig, L., Dehaene, S., and Jarraya, B. (2014). A hierarchy of responses to auditory regularities in the macaque brain. *Journal of Neuroscience*, 34(4):1127–1132.
- [135] Ursin, R. and Sterman, M. (1981). A manual for standardized scoring of sleep and waking states in the adult cat. los angeles: Brain information service. *Brain Research Institute, University of California*, pages 1–103.
- [136] Wacongne, C., Labyt, E., van Wassenhove, V., Bekinschtein, T., Naccache, L., and Dehaene, S. (2011). Evidence for a hierarchy of predictions and prediction errors in human cortex. *PNAS*, 108:20754–20759.
- [137] Wikler, A. (1952). Pharmacologic dissociation of behavior and eeg “sleep patterns” in dogs: morphine, n-allylnormorphine, and atropine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 79(2):261–265.
- [138] Winter, O., Kok, A., Kenernans, J. L., and Elton, M. (1995). Auditory event-related potentials to deviant stimuli during drowsiness and stage 2 sleep. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section*, 96(5):398–412.
- [139] Wolpert, D. M. and Ghahramani, Z. (2000). Computational principles of movement neuroscience. *Nature Neuroscience*, 3(11s):1212–1217.
- [140] Yabe, H., Tervaniemi, M., Reinikainen, K., and Näätänen, R. (1997). Temporal window of integration revealed by mmn to sound omission. *Neuroreport*, 8(8):1971–1974.
- [141] YAMAMOTO, J. (1988). Roles of cholinergic, dopaminergic, noradrenergic, serotonergic and gabaergic systems in changes of the eeg power spectra and behavioral states in rabbits. *Japanese journal of pharmacology*, 47(2):123–134.
- [142] Yi, G.-L., Zhu, M.-Z., Cui, H.-C., Yuan, X.-R., Liu, P., Tang, J., Li, Y.-Q., and Zhu, X.-H. (2022). A hippocampus dependent neural circuit loop underlying the generation of auditory mismatch negativity. *Neuropharmacology*, 206:108947.
- [143] Zagrodzka, J. and Kubiak, P. (1991). Scopolamine-induced alterations in predatory behaviour pattern in cats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 51(1-2):29–36.
- [144] Zanos, P., Moaddel, R., Morris, P. J., Riggs, L. M., Highland, J. N., Georgiou, P., Pereira, E. F., Albuquerque, E. X., Thomas, C. J., Zarate, C. A., and Gould, T. D. (2018). Ketamine and ketamine metabolite pharmacology: Insights into therapeutic mechanisms. *Pharmacological Reviews*, 70(3):621–660.
- [145] Zhang, X. S., Roy, R. J., and Jensen, E. W. (2001). EEG complexity as a measure of depth of anesthesia for patients. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 48(12):1424–1433.
- [146] Zhang, Y., Yan, F., Wang, L., Wang, Y., Wang, C., Wang, Q., and Huang, L. (2018). Cortical areas associated with mismatch negativity: A connectivity study using propofol anesthesia. *Frontiers in Human Neuroscience*, 12:392.
- [147] Zhou, C., Douglas, J. E., Kumar, N. N., Shu, S., Bayliss, D. A., and Chen, X. (2013). Forebrain HCN1 channels contribute to hypnotic actions of ketamine. *Anesthesiology*, 118(4):785–795.

- [148] Ziv, J. and Lempel, A. (1978). Compression of individual sequences via variable-rate coding. *IEEE Transactions on Information Theory*, 24(5):530–536.

Apéndice A

Material suplementario

A.1. Figuras

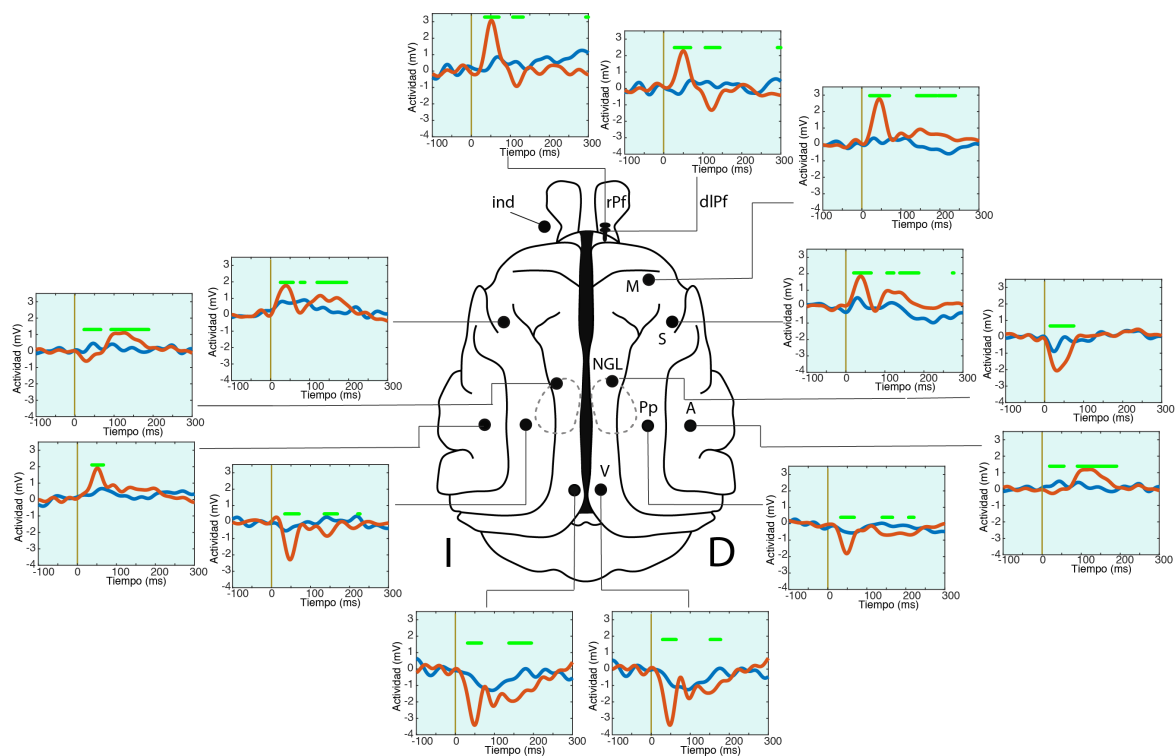


Figura A.1 Potenciales evocados obtenidos en el gato Neg rereferenciado contra la media global. Pfdl = corteza prefrontal dorsolateral; Pp = corteza parietal posterior; V = corteza visual; NGL = núcleo geniculado lateral; S = corteza somatosensorial; M = corteza motora; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia. La D indica la corteza derecha y la I indica la corteza izquierda.

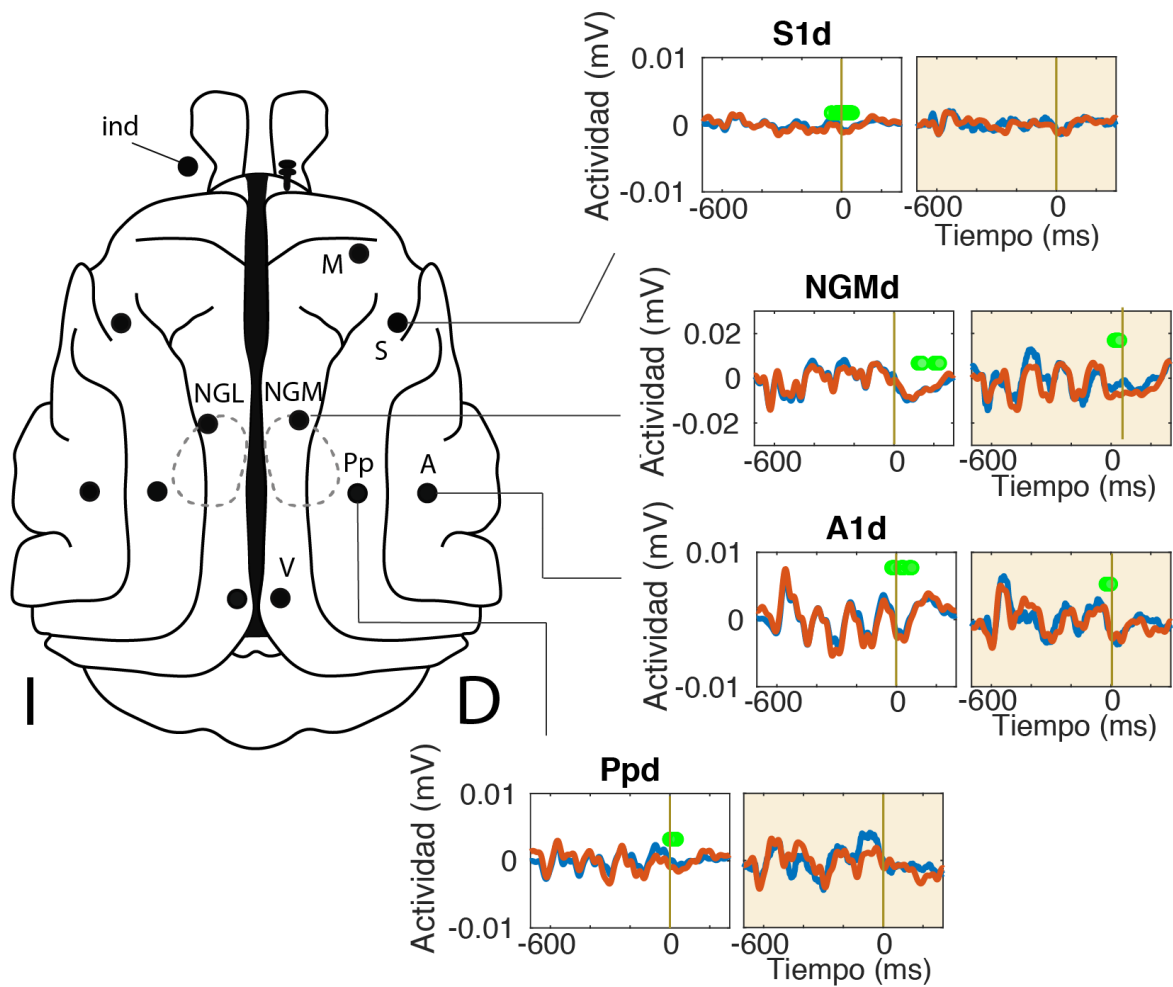


Figura A.2 Efecto de omisión en el gato Nim. En fondo blanco se muestra los ERPs durante el estado de W y con fondo beige durante el sueño NREM. La letra I indica el lado izquierdo y la letra D el lado derecho. Pp = corteza parietal posterior; NGM = núcleo geniculado medial; S = corteza somatosensorial; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia. La letra “d” indica la corteza derecha y la letra “i” indica la corteza izquierda.

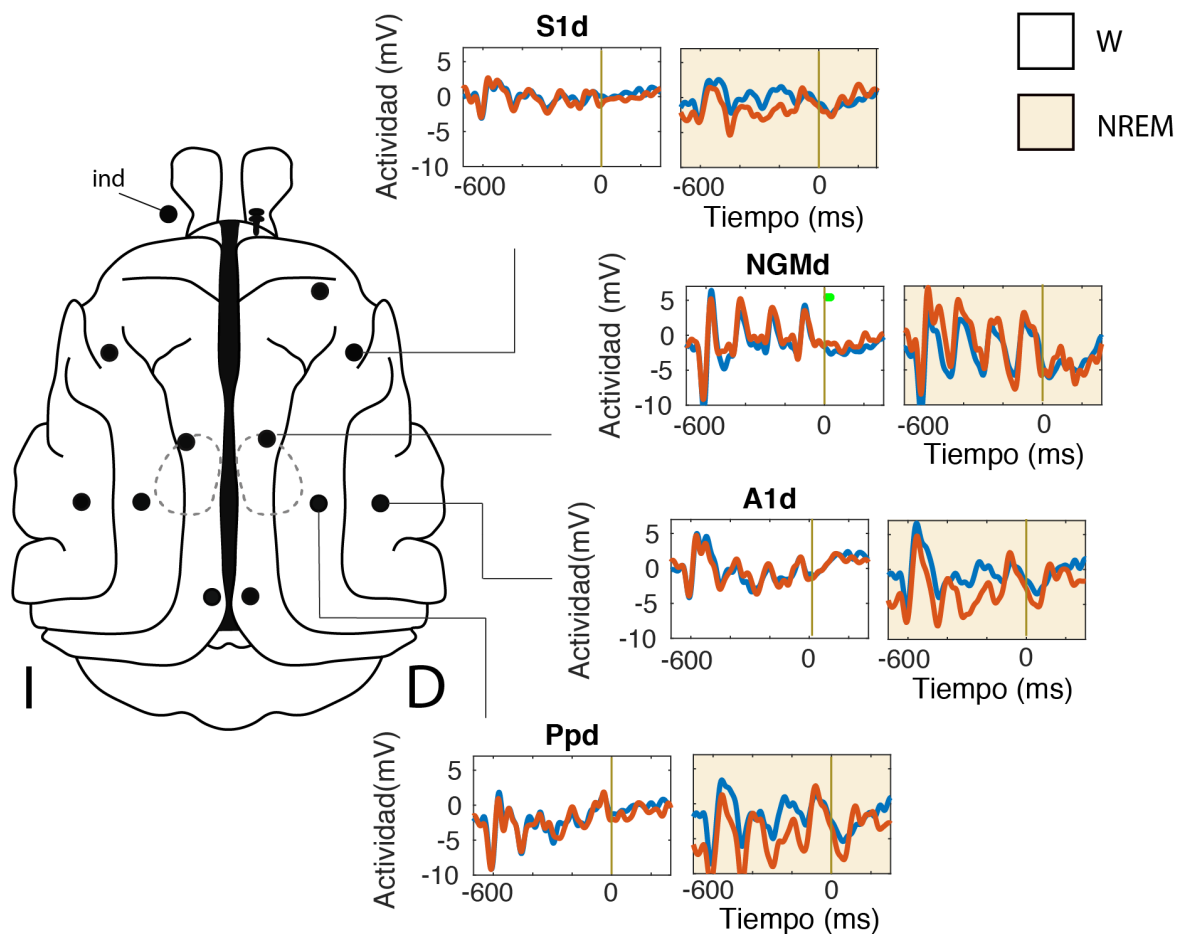


Figura A.3 Efecto de omisión en el gato Mic. En fondo blanco se muestra los ERPs durante el estado de W y con fondo beige durante el sueño NREM. La letra I indica el lado izquierdo y la letra D el lado derecho. Pp = corteza parietal posterior; NGM = núcleo geniculado medial; S = corteza somatosensorial; A = corteza auditiva; ref, ubicación del electrodo de referencia. La letra “d” indica la corteza derecha y la letra “i” indica la corteza izquierda.

A.2. Publicaciones

Preregistros

- Claudia Pascovich, Santiago Castro, Noelia Velasquez, Daniel Bor, Andrés Canales-Johnson, Pablo Torterolo, & Tristan A. Bekinschtein. Complexity of cortical activity under subanesthetic doses of ketamine and during sleep (<https://osf.io/dvpyr>).

- Claudia Pascovich, Andrés Canales-Johnson, Santiago Castro-Zaballa, Alicia Costa, Diego M. Mateos, Pedro A.M. Mediano, Daniel Bor, Joaquín Gonzalez, Pablo Torterolo, & Tristan Bekinschtein. Auditory predictions in wakefulness and sleep (<https://osf.io/tfjwg>).

Artículos publicados

- Pascovich, C., Castro-Zaballa, S., Mediano, P. A., Bor, D., Canales-Johnson, A., Torterolo, P., & Bekinschtein, T. A. (2022). Ketamine and sleep modulate neural complexity dynamics in cats. *European Journal of Neuroscience*, 55(6), 1584-1600. <https://doi.org/10.1111/ejn.15646>.

* Este trabajo fue destacado en la revista EJM como *Top Downloaded Article*, donde fue uno de los más descargados durante los primeros 12 meses de su publicación.

Publicaciones provenientes de proyectos colaterales

- Claudia Pascovich, Diego Serantes, Alejo Rodriguez, Diego Mateos, Joaquín González, Diego Gallo, Mayda Rivas, Andrea Devera, Patricia Lagos, Nicolás Rubido, & Pablo Torterolo. Dorsal and median raphe neuronal firing dynamics characterized by nonlinear measures. *PLOS Computational Biology* (2024). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1012111>

- Claudia Pascovich, Alejandra Mondino, Patricia Lagos, Atilio Falconi, Ximena Lopez Hill, Cecilia Scorza and Pablo Torterolo. Effects on sleep of Melanin-concentrating hor-

mone (MCH) microinjections into the median raphe nucleus. *Sleep Science*, 2020. DOI: 10.5935/1984-0063.20200075

- Claudia Pascovich, Patricia Lagos, Jessika Urbanavicius, Andrea Devera, Mayda Rivas, Alicia Costa, Ximena López Hill, Atilio Falconi, Cecilia Scorza, & Pablo Torterolo. Melanin-concentrating hormone (MCH) in the median raphe nucleus: fibers, receptors and cellular effects. *Peptides*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170249>

- Diego Gallo, Matias Cavelli, Santiago Castro-Zaballa, Juan Pedro Castro-Nin, Claudia Pascovich, Pablo Torterolo, & Joaquín González. Differential Effects of Haloperidol on Neural Oscillations During Wakefulness and Sleep. *Enviado a Neuroscience*, 2024.

- Santiago Castro-Zaballa, Joaquín González, Matías Cavelli, Diego Mateos, Claudia Pascovich, Adriano Tort, Mark Jeremy Hunt, & Pablo Torterolo. Cortical high-frequency oscillations ($\approx 110\text{Hz}$) in cats are state-dependent and enhanced by a subanesthetic dose of ketamine. *bioRxiv*.2023.05.31.543142. doi:.<https://doi.org/10.1101/2023.05.31.543142>.

- Mayda Rivas, Diego Serantes, Claudia Pascovich, Florencia Peña, Annabel Ferreira, Pablo Torterolo, & Luciana Benedetto. Electrophysiological characterization of medial pre-optic neurons in lactating rats and its modulation by hypocretin-1. *Neuroscience. Research*, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2022.08.009>

- Joaquín González, Diego Mateos, Matias Cavelli, Alejandra Mondino, Claudia Pascovich, & Pablo Torterolo. Low Frequency Oscillations drive EEG's complexity changes during wakefulness and sleep. *Neuroscience*, 2022. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2022.04.025

- Joaquín Gonzalez, Matias Cavelli, Alejandra Mondino, Claudia Pascovich, Santiago Castro-Zaballa, Nicolas Rubido, & Pablo Torterolo. Electro cortical temporal complexity during wakefulness and sleep: an updated account. SPECIAL ISSUE. XV Latin-American Symposium on Chronobiology. DOI: 10.5935/1984-0063.20200013

- Joaquín González, Matias Cavelli, Alejandra Mondino, Claudia Pascovich, Santiago Castro-Zaballa, Pablo Torterolo, & Nicolás Rubido. Decreased electrocortical temporal complexity distinguishes sleep from wakefulness. Scientific Reports, 2019. doi:.10.1038/s41598-019-54788-6

- Pablo Torterolo, Joaquín González, Santiago Castro-Zaballa, Matías Cavelli, Alejandra Mondino, Claudia Pascovich, Nicolás Rubido, Eric Murillo-Rodríguez, & Giancarlo Vanini. Polysomnography in humans and animal models: basic procedures and analysis. Cap. 2. In: Methodological Approaches for Sleep and Vigilance Research. Academic Press, London. ISBN 978-0-323-85235-7. DOI: 10.1016/B978-0-323-85235-7.00010-7

Presentaciones en congresos

- Claudia Pascovich, Andrés Canales-Johnson, Santiago Castro-Zaballa, Alicia Costa, Diego M. Mateos, Pedro A.M. Mediano, Daniel Bor, Joaquín Gonzalez, Pablo Torterolo, & Tristan Bekinschtein. Neural correlates of auditory predictions and their modulation during sleep in cats. Cambridge Neuroscience Conference 2024. Cambridge, Reino Unido.

* Este trabajo fue premiado en la categoría de presentaciones de poster por estudiantes de doctorado.

- Claudia Pascovich, Santiago Castro-Zaballa, Pedro A.M. Mediano, Daniel Bor, Andrés Canales-Johnson, Pablo Torterolo, & Tristan A. Bekinschtein. Ketamine and sleep modulate

neural complexity dynamics in cats. ASSC 2022. Amsterdam, Países Bajos.

Presentaciones en congresos por estudiantes supervisados

- Ana Carolina Maiztegui Croppi, María Sofía Rochetti, Claudia Egea, Diego Mateos, & Claudia Pascovich Rognoni. XXIII Congreso Argentino de Bioingeniería y XII Jornadas de Ingeniería Clínica 2022. San Juan, Argentina.

* Este trabajo recibió premio a la mejor presentación de posters en la categoría de estudiantes de grado.

- Ruiz. J., Mateos D.M., Rodriguez A., Devera A., Rivas M., Gonzalez J., Torterolo P., & Pascovich C. Temporal Dynamics of spike trains in the raphe nuclei during urethane sub-states in rats. Dynamical Systems Applied to Biology and Natural Sciences – DSABNS 2022. Conferencia *On line*. <https://sites.google.com/view/dsabns2022/scientific-programme/posters>.

- Ruiz. J., Mateos D.M., Rodriguez A., Devera A., Rivas M., Gonzalez J., Torterolo P., & Pascovich C. Temporal Dynamics of spike trains in the raphe nuclei during urethane sub-states in rats. Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS), 2021. Conferencia *On line*.

- Diego Serantes, Claudia Pascovich, Diego Gallo, Andrea Devera, Mayda Rivas, Joaquín Gonzalez, Atilio Falconi, Pablo Torterolo, & Nicolás Rubido. Characterization of the activity of Medial Rafe neurons by Permutation Entropy: preliminary results. II National Congress of Biosciences 2019. Montevideo, Uruguay.

* Este trabajo recibió premio a la mejor presentación de posters en la categoría de estudiantes de grado.

RESEARCH REPORT

Ketamine and sleep modulate neural complexity dynamics in cats

Claudia Pascovich^{1,2}  | Santiago Castro-Zaballa¹ | Pedro A. M. Mediano²  | Daniel Bor² | Andrés Canales-Johnson^{2,3} | Pablo Torterolo¹ | Tristan A. Bekinschtein²

¹Laboratory of Sleep Neurobiology, Department of Physiology, School of Medicine, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Consciousness and Cognition Laboratory, Department of Psychology, University of Cambridge, Cambridge, UK

³Vicerrectoría de Investigación y Posgrado, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile

Correspondence

Claudia Pascovich, Laboratory of Sleep Neurobiology, Department of Physiology, School of Medicine, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
Email: cpascovich@gmail.com

Funding information

Comisión Sectorial de Investigación Científica, Grant/Award Number: I + D-2020-393; Wellcome Trust, Grant/Award Number: 210920/Z/18/Z; Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas, PEDECIBA

Edited by: Edmund Lalor

Abstract

There is increasing evidence that the level of consciousness can be captured by neural informational complexity: for instance, complexity, as measured by the Lempel Ziv (LZ) compression algorithm, decreases during anaesthesia and non-rapid eye movement (NREM) sleep in humans and rats, when compared with LZ in awake and REM sleep. In contrast, LZ is higher in humans under the effect of psychedelics, including subanaesthetic doses of ketamine. However, it is both unclear how this result would be modulated by varying ketamine doses, and whether it would extend to other species. Here, we studied LZ with and without auditory stimulation during wakefulness and different sleep stages in five cats implanted with intracranial electrodes, as well as under subanaesthetic doses of ketamine (5, 10, and 15 mg/kg i.m.). In line with previous results, LZ was lowest in NREM sleep, but similar in REM and wakefulness. Furthermore, we found an inverted U-shaped curve following different levels of ketamine doses in a subset of electrodes, primarily in prefrontal cortex. However, it is worth noting that the variability in the ketamine dose–response curve across cats and cortices was larger than that in the sleep-stage data, highlighting the differential local dynamics created by two different ways of modulating conscious state. These results replicate previous findings, both in humans and other species, demonstrating that neural complexity is highly

Abbreviations: 5-HT, 5-hydroxytryptamine; BF, Bayes factors; BIC, Bayesian information criterion; DMT, *N,N*-dimethyltryptamine; ECG, electrocardiogram; ECoG, electrocorticogram; EEG, electroencephalography; EMG, electromyogram; ERPs, evoked related potentials; GABA, gamma aminobutyric acid; HCN channels, hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels; LS, light sleep; LSD, lysergic acid diethylamide; LZ, Lempel–Ziv; NMDA, *N*-methyl-D-aspartate; NREM, non-rapid eye movement; PCI, perturbational complexity index; PCIST, PCI state-transition; REM, rapid eye movements; SWS, slow wave sleep; TMS, transcranial magnetic stimulation.

Pablo Torterolo and Tristan A. Bekinschtein shared senior authors.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2022 The Authors. *European Journal of Neuroscience* published by Federation of European Neuroscience Societies and John Wiley & Sons Ltd.

sensitive to capture state changes between wake and sleep stages while adding a local cortical description. Finally, this study describes the differential effects of ketamine doses, replicating a rise in complexity for low doses, and further fall as doses approach anaesthetic levels in a differential manner depending on the cortex.

KEYWORDS

cats, complexity, cortex, ketamine, local field potential, psychedelics, sleep, thalamus

1 | INTRODUCTION

There is increasing evidence for a strong association between neural information measures, such as electrophysiological signal complexity, and level of consciousness (Abásolo et al., 2015; Castro-Zaballa et al., 2019; González et al., 2019; Mateos et al., 2018; Schartner et al., 2015; Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017; Zhang et al., 2001). One of the most studied neural complexity metrics is Lempel–Ziv (LZ) complexity, capturing the number of distinct substrings or patterns within a sequence (Lempel & Ziv, 1976; Ziv & Lempel, 1978). A decrease in complexity has been demonstrated for anaesthesia (Li & Mashour, 2019; Schartner et al., 2015; Zhang et al., 2001) and during non-rapid eye movement sleep (NREM sleep) when compared with normal wakefulness. However, REM complexity has consistently been shown to be above NREM sleep and below normal wakefulness (Abásolo et al., 2015; Andrillon et al., 2016; Mateos et al., 2018; Schartner, Pigorini, et al., 2017). The increase in complexity during REM, where vivid dreaming often occurs, may lend credence to the hypothesis that complexity may not only be modulated by consciousness level but also signal the degree of contents of consciousness (Abásolo et al., 2015; Mateos et al., 2018).

Further evidence for LZ associated with an increase in the range of conscious contents comes from higher LZ during resting state in humans under the effect of psychedelics, specifically lysergic acid diethylamide (LSD), psilocybin, and subanaesthetic doses of the dissociative NMDA-antagonist ketamine, compared with placebo (Li & Mashour, 2019; Mediano et al., 2020; Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017). These drugs have profound and widespread effects on conscious experiences, both internally and externally generated. More specifically, they appear to “broaden” the scope of conscious contents, vivifying imagination and positively modulating the flexibility of cognition (Carhart-Harris et al., 2014, 2016). For all three drugs, reliably higher spontaneous signal diversity was reported. More recently, a higher level of complexity following a subanaesthetic dose of ketamine was

also reported (Farnes et al., 2020; Li & Mashour, 2019) in spontaneous high-density scalp electroencephalography (EEG) signals in healthy volunteers, but no increase was observed when auditorily stimulated.

Ketamine also appears to maintain spatiotemporal complexity, as measured through the perturbational complexity index (PCI) (Sarasso et al., 2015). PCI is the result of applying LZ to the spatiotemporal pattern of cortical activation evoked by transcranial magnetic stimulation (TMS) and has proven to be a reliable classifier of level of consciousness (Casali et al., 2013). PCI decreases during propofol, midazolam, and xenon anaesthesia (Casali et al., 2013) but maintains wakefulness baseline level during ketamine anaesthesia (Sarasso et al., 2015).

Despite this body of work, important questions remain unanswered. First, prior studies provide only a disjointed picture by investigating the effect of anaesthetic dose in TMS-evoked cortical activation (Sarasso et al., 2015) or subanaesthetic dose in spontaneous magnetoencephalographic (MEG) signals (Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017). For a more complete understanding of ketamine’s psychoactive effects, a systematic investigation of the dose-dependent effects of ketamine on cortical complexity using the same modality is required. Therefore, in this work, we aimed to investigate the level of informational complexity during different stages of sleep in the cat as well as under subanaesthetic doses of ketamine in a dose-dependent manner, compared with the control awake state. Additionally, we determined how the complexity measures under ketamine compared with baseline conditions, with or without the presence of sensory stimulation. Finally, we sought to understand the possible differences in informational complexity between resting-state periods and sensory stimulation periods across conscious states. We aim to add to the characterization of the interaction between psychedelic states and perturbational states in intracranial recordings and via dose-dependent manner because our own work suggests a modulation by task (Mediano et al., 2020, 2021) while others do not (Farnes et al., 2020). Accordingly (Pascovich et al., 2019),

the following hypotheses were proposed: (1) LZ would reflect sleep level: LZ in wakefulness would be just above REM sleep. REM sleep would be above light sleep (LS), and NREM sleep would have the lowest complexity value; (2) LZ would be increased during the initial period of drug infusion compared with baseline wakefulness; (3) the level of complexity would be higher under sensory stimulation compared with baseline, for both conditions, with and without ketamine; and (4) stimulation-induced complexity increase would be more evident under the effect of ketamine. This last hypothesis is in line with the entropic brain theory, assuming that under psychedelics the diversity of mental states is increased and the experience produced by a stimuli is amplified by the brain under this state (Carhart-Harris et al., 2014, 2016).

2 | RESULTS

2.1 | Sleep shows a state-dependent effect on LZ complexity

Cats underwent a polysomnographic recording in semirestricted conditions where they were adapted to sleep. Data were obtained during spontaneously occurring quiet wakefulness, LS, NREM sleep and REM sleep (Figure 1a). Examples of raw traces and power spectrum characterization in two cortices from one cat are presented in Figure 1d. For a more detailed description of power spectral density results, see Castro-Zaballa et al. (2019).

LZ was computed using the LZ78 algorithm (Ziv & Lempel, 1978; Figure 1c) from the different sleep

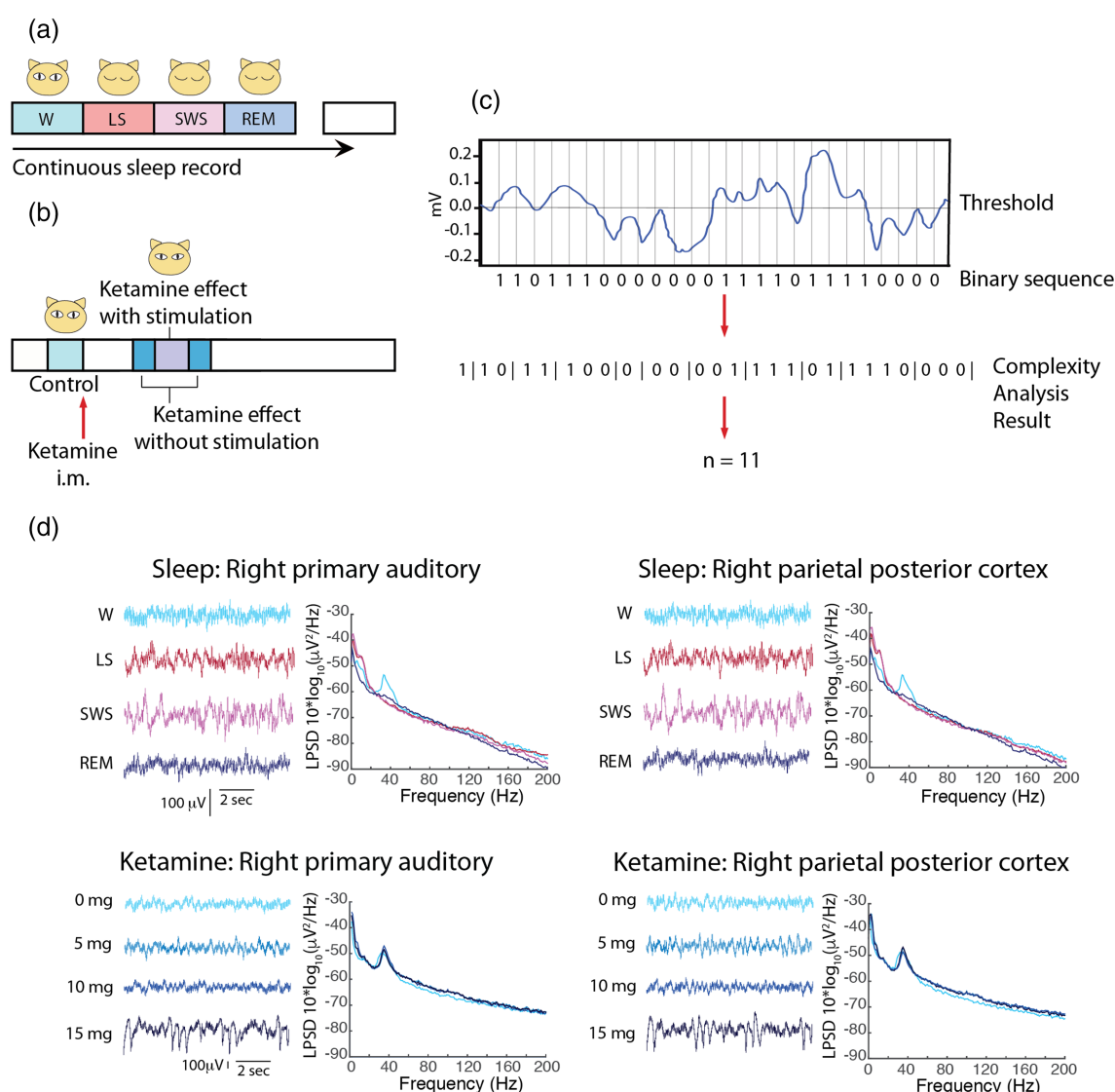


FIGURE 1 Schematic illustrating the experimental design for electrocorticographic recordings during the different states of sleep (a) and before, and after the different doses of ketamine (b). i.m., intramuscular. (c) Illustration showing how to transform a segment of ECoG signal series into a binary sequence and the result of the LZ complexity analysis on the binary sequence. (d) Raw traces and spectral characterization of sleep stages and different subanesthetic doses of ketamine in one animal

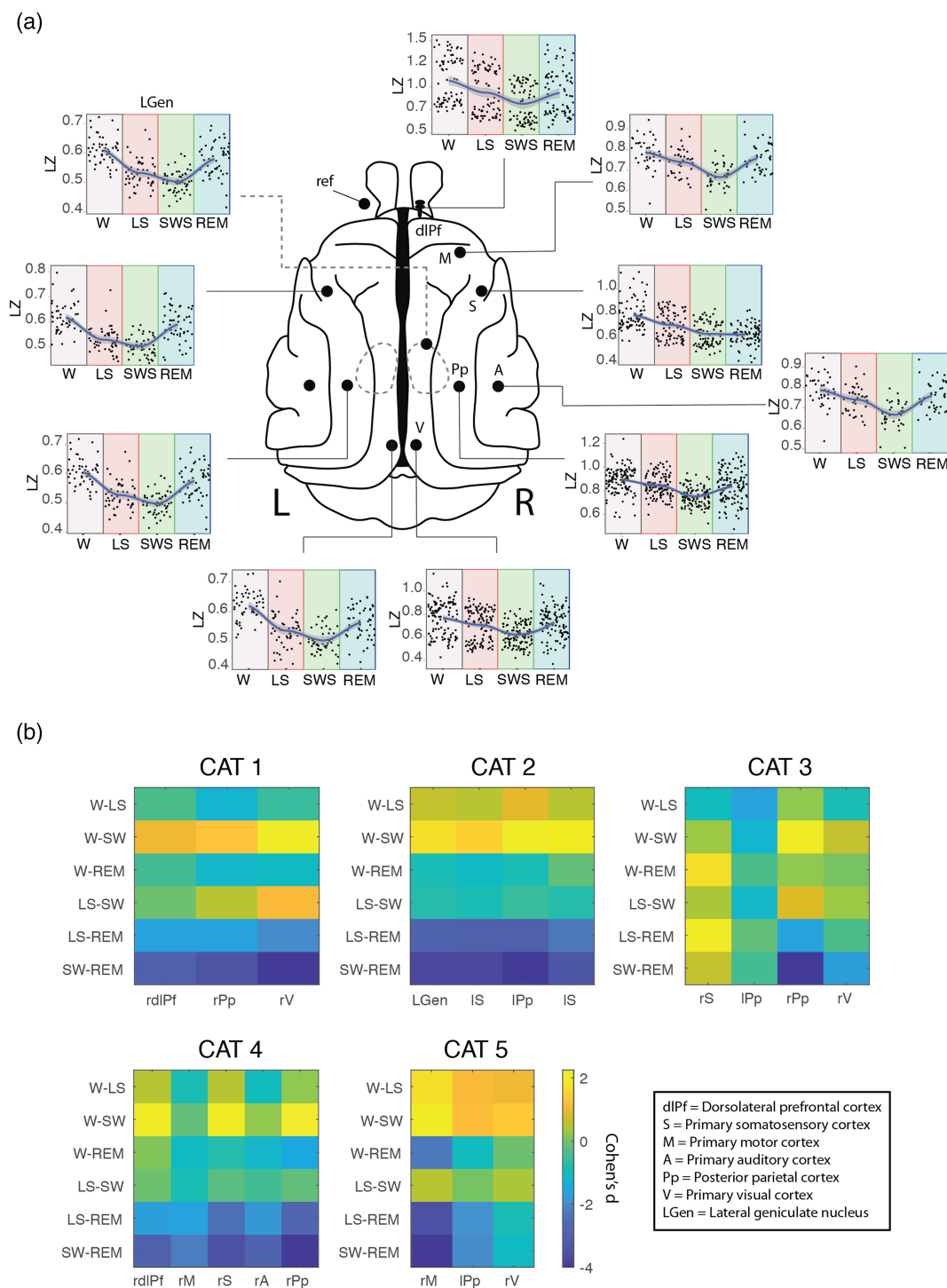


FIGURE 2 Cortical dynamic of LZ during sleep. Schematic representations of the cat brain are used to visualize the differential dynamics of LZ during wakefulness and different states of sleep (a), showing a U-shaped complexity curve with state progression from W to LS, SWS and REM. “L” indicates Left side and “R” right side. (b) The differences in average LZ between sleep states, as measured by ANOVA and Tukey posthoc test. Effect sizes were calculated by Cohen’s *d* and represented in a colour scale, where yellow means a positive difference and blue means a negative difference between the effect sizes of the pair of states compared. W = wakefulness; LS = light sleep; SWS = slow wave sleep; REM = rapid eye movements sleep; dIPf = dorsolateral prefrontal cortex; Pp = posterior parietal cortex; V = visual cortex; LGen = lateral geniculate nucleus; S = somatosensory cortex; M = motor cortex; A = auditory cortex; ref, reference electrode location. In b, “r” indicates right and “l” indicates left cortex

stages for all the cortices available (Figure 2a). Effect sizes for differences between states at the single subject level are shown in Figure 2b. For all animals, LZ scored higher for wakefulness than NREM sleep (Cohen's $d > 0.8$) for most of the cortices. As predicted, LZ values were highest for REM and W, intermediate for LS, and lowest for NREM sleep.

Additionally, mixed effects models were formulated for each cortex including the cat as a random effect when applicable. Thereafter, model selection was performed between linear and quadratic models using Bayes factors (BF) to decide between U-shaped and linear fits. All model comparisons between linear and nonlinear quadratic fits showed the supremacy of the nonlinear fit (Table 1) in agreement with our previous hypotheses, where the REM sleep showed higher complexity values than the deep sleep—with the exception of the right somatosensory cortex, where the results showed a flattening of the curve compared with all other cortices (Figure 2).

2.2 | Heterogeneous cortical dynamics across cortices under ketamine

For this experiment, the data were collected under the same experimental conditions as for sleep recordings in the same cats, and i.m. injections of ketamine of 5, 10, or 15 mg/kg were performed in separate nonconsecutive days as schematized in Figure 1b (see Section 4). The raw data shown in Figure 1d reveal the presence of slow waves with 15 mg/kg dose of ketamine, whereas the power spectral density plots show an increase in gamma power, as already had been reported by Castro-Zaballa et al. (2019). Again, LZ was calculated in epochs before and after the administration of the drug. To address dose–response relationships, a multilevel model was used where LZ was predicted by dose (fixed effect), and cat and session were considered as random effects (with sessions nested within cats, and each dose of ketamine was repeated four times).

Considerably greater LZ variability was observed under ketamine than for the sleep results, especially

TABLE 1 Selection between linear and nonlinear models among different sleep stages for each cortex

Cortex	No. of cats	Model	BF
Right dorsolateral prefrontal	2	Linear	
		Quadratic *	6.88×10^{18}
Right primary motor	2	Linear	
		Quadratic *	1.90×10^{17}
Right primary auditory	1	Linear	
		Quadratic *	4.42×10^6
Right primary somatosensory	2	Linear	
		Quadratic	0.681
Left primary somatosensory	1	Linear	
		Quadratic *	8.53×10^{20}
Right posterior parietal	3	Linear	
		Quadratic *	1.76×10^7
Left posterior parietal	1	Linear	
		Quadratic *	7.19×10^9
Right primary visual	3	Linear	
		Quadratic *	3.70×10^{11}
Left primary visual	1	Linear	
		Quadratic *	3.77×10^{17}
Right lateral geniculate	1	Linear	
		Quadratic *	7.00×10^{20}

Note: Mixed effects models were formulated for each cortex including the cat as a random effect when applicable. Bayes factors (BF) were used to decide between U-shaped and linear fits. With the exception of the right primary somatosensory cortex, all model comparisons showed the supremacy of the quadratic fit. The asterisks indicate substantial evidence for a quadratic fit (BF > 5).

during the lowest doses explored (Figure 3a). In some regions, the results are in agreement with our hypothesis, which predicted an increase in informational complexity after the lowest ketamine dose, followed by a decrease with the higher dose showing an inverted U-shaped relationship. This can be observed clearly in the right rostral and dorsolateral prefrontal cortices as well as the right primary auditory cortex ($BF = 1.70 \times 10^{14}$, $BF = 2.57 \times 10^5$, $BF = 8.25 \times 10^9$, respectively). However, when we look at the individual effect per cortex in each animal, it can be seen that the inverted U-shaped

relationship is not systematic between cats and is present only in the cortices of two out of five cats (Figure 3b).

On the other hand, an opposite curve was obtained for somatosensory and posterior parietal cortices. Finally, for the visual cortex, the effects were less consistent among cats; in this last example, the two cats tested had different responses to ketamine with opposite effects (Figure 3b).

As for sleep, we studied ketamine effects on LZ using model fitting of the individual mixed effects models for each cortex. Model selection was performed in this case

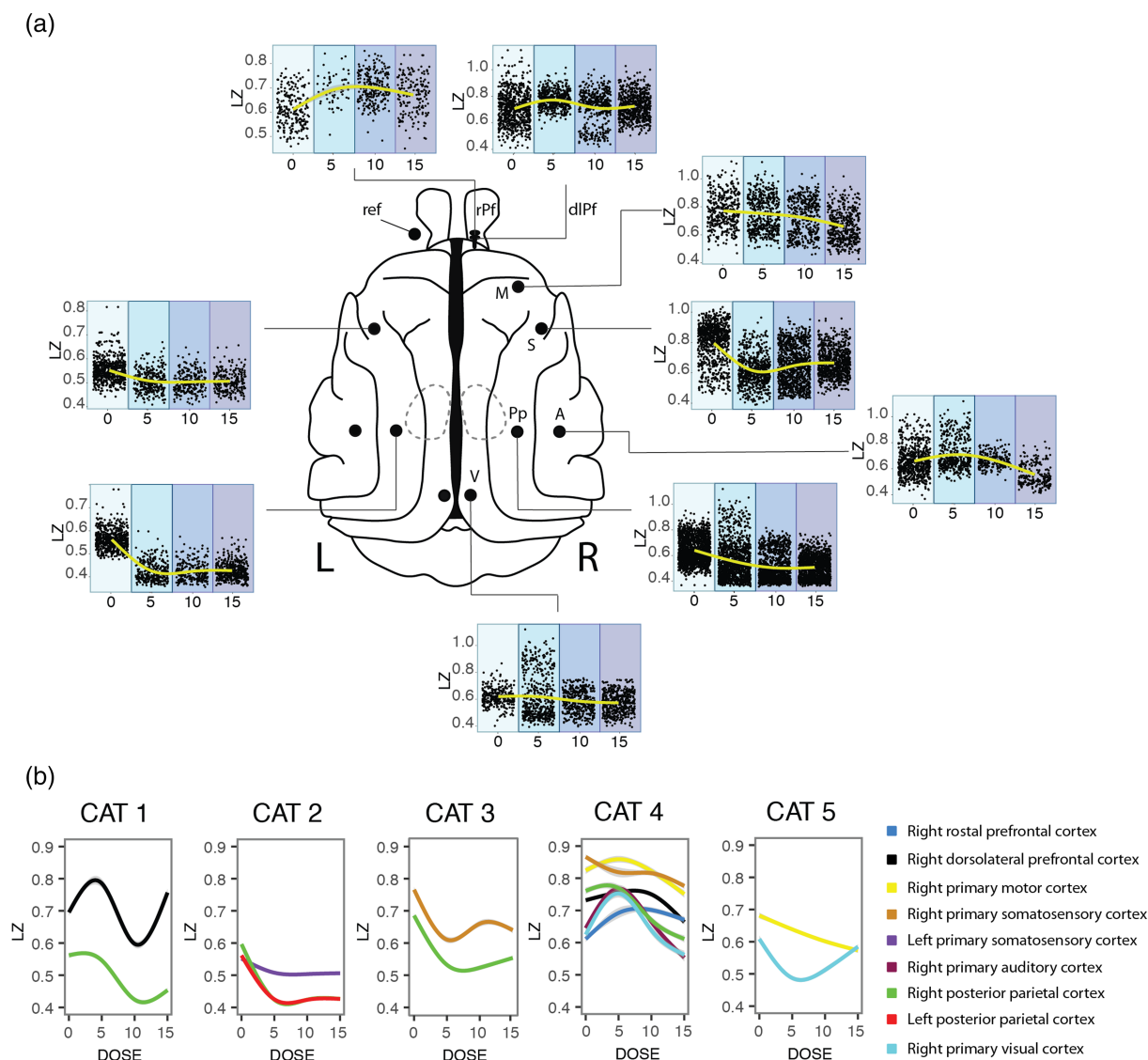


FIGURE 3 Curves dose-response of the dose of ketamine on cortical dynamics of LZ. (a) Dose-response curve of subanaesthetic doses of ketamine, showing an inverted U-shaped curve only for prefrontal and auditory cortices, with monotonic decrease of complexity with concentration for the other cortices. Each plot represents the sum of the different sessions for each dose of the different cats which have that cortex, therefore the number of cats is different per cortex. (b) The curves are plotted per cat. It can be clearly seen that the variability in the informational complexity dynamic per cortex and per cat is evidenced more clearly when plotted individually, and shows that there is a dissociation of the dose-response and the anatomical location. The doses are represented in mg/kg. rPf, rostral prefrontal cortex; dlPf, dorsolateral prefrontal cortex; M, primary motor cortex; S, primary somatosensory cortex; A, primary auditory cortex, Pp, posterior parietal cortex; V, visual cortex. "L" indicates the left side and "R" the right side

between linear, quadratic and cubic models using BF (Table 2).

Finally, in order to show the possible inter-areal differential effects of ketamine and dependencies to LZ in basal conditions among cortices, we studied both the baseline variance and its change per area. To study the basal conditions among cortices, we built a linear mixed effect model including cats and sessions as random effects, and cortex as fixed effect and that model is statistically reliable ($BIC = -15,175$) when contrasted against a null model ($BIC = -12,941$; $p < 0.01$) indicating that LZ vary among cortices. We further show that the effect of ketamine does not seem to be dependent on the LZ in basal conditions in wakefulness (see Figure S1). When looking into wakefulness and light sleep the effects in LZ were all in the same direction and comparable in intensity independently of the baselines variability. It seems that basal LZ does not predict whether the LZ increases or decreases with drug. Finally, an interesting exploratory finding showed higher baseline LZ for right parietal cortices when compared with left side ones ($p < 0.01$;

$BF = 3.3 \times 10^{16}$) but not strong enough for primary somatosensory and primary visual.

2.3 | Informational complexity is not modulated by auditory stimuli under ketamine

In three cats, modulation by auditory stimuli was studied. Under control conditions without ketamine, an increase in LZ was observed during stimulation in dorsolateral prefrontal (0.66 ± 0.04 to 0.70 ± 0.007 , $p < 0.01$, $\eta^2 = 0.044$, $BF = 10619.07$) and auditory (0.63 ± 0.05 to 0.66 ± 0.007 , $p < 0.01$, $\eta^2 = 0.035$, $BF = 75.27$) cortices, whereas the effect on other cortices studied were nonreliable, including right posterior parietal cortex (0.53 ± 0.02 to 0.53 ± 0.001 , $p < 0.01$, $\eta^2 = 0.008$, $BF = 7.0 \times 10^{-5}$), right somatosensory cortex (0.62 ± 0.05 vs. 0.62 ± 0.002 with $p = 0.61$, $\eta^2 = 0.005$, $BF = 1.0 \times 10^{-4}$), left somatosensory cortex (0.52 ± 0.005 vs. 0.53 ± 0.002 with $p < 0.01$, $\eta^2 = 0.002$,

TABLE 2 Selection between linear and nonlinear models among different doses of ketamine for each cortex

Cortex	No. of cats	Model	BF
Right dorsolateral prefrontal	2	Linear	
		Quadratic *	2.57×10^5
		Cubic	288.73
Right rostral prefrontal	1	Linear	
		Quadratic *	1.70×10^{14}
Right primary motor	2	Linear	
		Quadratic	0.04
Right primary auditory	2	Linear	
		Quadratic *	8.25×10^9
Right primary somatosensory	3	Linear	
		Quadratic	3.0×10^{-3}
		Cubic	0.66
Left primary somatosensory	1	Linear	
		Quadratic	1.08
Right posterior parietal	4	Linear	
		Quadratic	1.13×10^{-4}
Left posterior parietal	2	Linear	
		Quadratic *	46057.12
Right primary visual	2	Linear	
		Quadratic	1.28
		Cubic	3.0×10^{-3}

Note: Mixed effects models were formulated for each cortex including the cat as a random effect when applicable. Bayes factors (BF) were used to decide between quadratic (U-shaped), cubic and linear fits. Clear evidence towards a quadratic fit was found for right dorsolateral and rostral prefrontal cortices, right primary auditory cortex and left posterior parietal cortex. The asterisks indicate substantial evidence for a quadratic fit ($BF > 5$).

BF = 0.09), and left posterior parietal cortex (0.47 ± 0.01 vs. 0.48 ± 0.001 , $p = 0.85$, $\eta^2 = 0.001$, BF = 1.0×10^{-4} , Figure 4a).

Initially, we hypothesized that the increment in complexity under the sensory stimulation versus non-stimulation conditions would be more evident under the effect of ketamine. However, there was no interaction between stimulation and ketamine. For left somatosensory cortex, nonreliable effect was observed during basal conditions in response to the stimuli ($p = 3 \times 10^{-4}$, BF = 0.09), as well as evidence for no interaction between dose and stimuli ($p = 0.16$; BF = 3.5×10^{-4} , Figure 4b). For right somatosensory cortex, where nonreliable increase was evidenced in control conditions (Figure 4a), no reliable interaction was found during ketamine effect ($p = 2.0 \times 10^{-3}$; BF = 0.012) with no response to the stimuli ($p = 0.64$; BF = 1.5×10^{-4} ; Figure 4c). For the prefrontal cortex, where an increase was observed in control conditions, the same effect was found under ketamine ($p = 9.4 \times 10^{-8}$; BF = 335.92), with nonreliable interaction between stimuli and ketamine ($p = 0.51$; BF = 2.5×10^{-8} ; Figure 4d). For left posterior parietal cortex, nonreliable effect was found under baseline conditions, there was no effect of stimulation

under ketamine ($p = 0.85$; BF = 1.2×10^{-4}), and the interaction also remained unchanged under ketamine ($p = 0.74$; BF = 2.5×10^{-6} ; Figure 4e). Finally, for right posterior parietal cortex, no effect was found under basal conditions, there was no change with the stimuli under ketamine ($p = 0.46$; BF = 7.4×10^{-5}), and the modulation by stimulation was nonreliable ($p = 8 \times 10^{-3}$; BF = 8×10^{-3} ; Figure 4f).

3 | DISCUSSION

In this work, using LZ as a measure of dynamical complexity on direct intracranial recordings, we studied the effect of subanaesthetic doses of ketamine in a dose-dependent manner. Ketamine elicited a diverse set of dynamics, with the lower doses showing the most variable effects. For prefrontal and auditory cortices an increase in LZ was observed from low to medium ketamine dose. However, a decrease was evidenced at the maximum dose, drawing an inverted U-shape dose-effect curve, whereas the opposite effect was observed for other cortices including somatosensory and posterior parietal cortices, where an initial decrease was followed by an

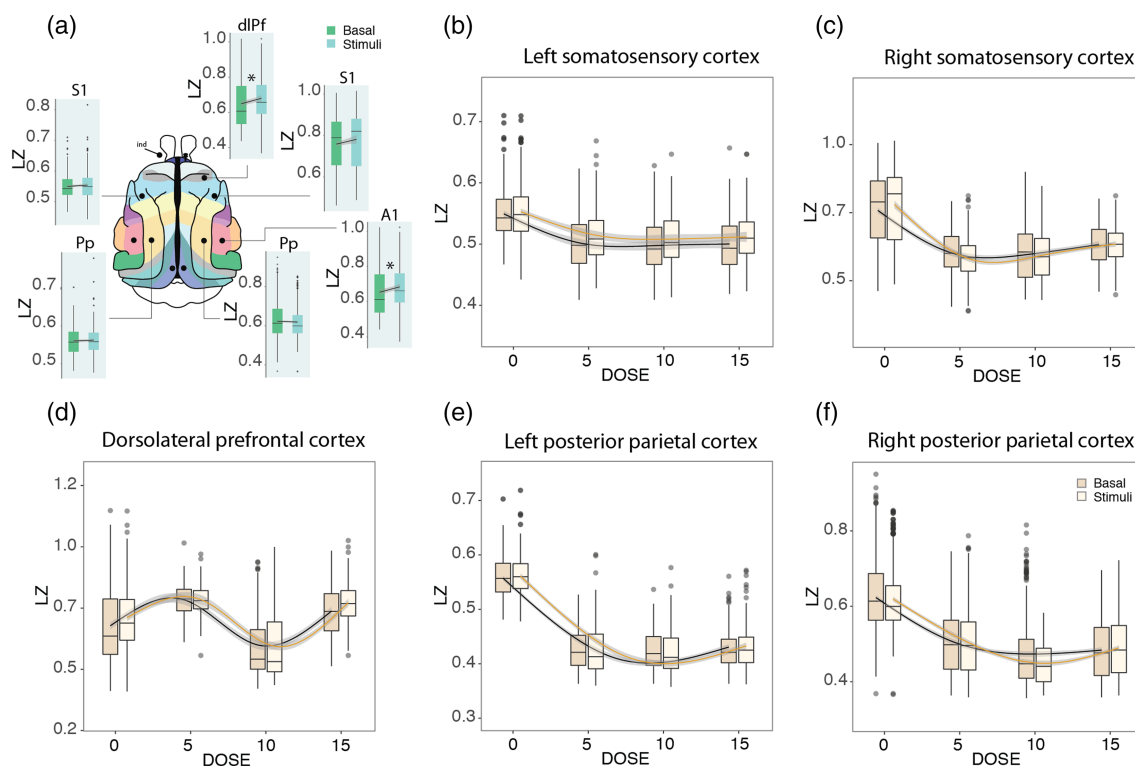


FIGURE 4 Modulation of LZ by auditory stimulation. (a) The effect of stimulation was shown without ketamine where an increase in LZ was observed during stimulation in dorsolateral prefrontal and auditory cortices. *Statistically reliable ($p < 0.01$; BF > 5). dLPf = dorsolateral prefrontal cortex; Pp = posterior parietal cortex; S1 = primary somatosensory cortex; A1 = primary auditory cortex. (b–f) Modulation by stimulation under the effect of ketamine in 5, 10, and 15 mg/kg doses. No stimulation by dose interaction was observed. The doses are represented in mg/kg

increase in complexity at higher doses. Additionally, we also presented auditory stimulation to the cats, which elicited an increase in LZ in prefrontal and auditory cortices, but this effect was not modulated by ketamine. Finally, in the same animals, we studied LZ during sleep, which by contrast show a homogeneous pattern among cortices. We demonstrate that informational complexity in the cortex of the cat decreases in light and deep sleep compared with awake states and REM. The same effect was observed in the geniculate nucleus of the thalamus, but as it was tested in only one animal and hence more evidence is required to see convergence in subcortical structures. For most of the cortex, there is only marginal complexity difference between wakefulness and REM sleep. The results were consistent among cats and similar for all the cortices studied and, more importantly, confirm previous results in humans and rats.

As measures of neural signal diversity are known to be sensitive to conscious level in natural state changes (the sleep–wake cycle), they are also sensitive to the changes in brain dynamics associated with psychedelic and anaesthetic states. Specifically, Schartner et al. found increased global neural signal diversity for the psychedelic state induced by ketamine, psilocybin and LSD, as compared with placebo, across a range of measures (Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017). Other recent MEG and EEG studies have also demonstrated elevated signal diversity induced by canonical serotonergic psychedelics and ketamine (Tagliazucchi et al., 2014; Timmermann et al., 2019).

From the perspective of its effects on EEG signal diversity, the dissociative NMDA-antagonist ketamine diverges from traditional anaesthetics at subanaesthetic concentrations, as it induces dissociative states characterized by a maintained or enhanced repertoire of brain states (Li & Mashour, 2019; Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017). This is in contrast to GABAergic anaesthetics such as propofol, which have been shown to degrade sensory integration and attenuate neural signal diversity in a dose-dependent manner (Ferenets et al., 2006, 2007; Ishizawa et al., 2016). While those studies were based on EEG signals that had been low-pass filtered at 55 Hz and lacked cortical dynamics in higher gamma frequencies, Pal et al. (2020) have recently demonstrated that this part of the signal is important. Using intracranial EEG data from frontal and parietal cortices of rats receiving ketamine or propofol anaesthesia, they demonstrated a reduction in broadband (0.5–175 Hz) EEG complexity during ketamine anaesthesia that is comparable to that induced by the GABAergic anaesthetic propofol. Bandwidth-specific analyses restricted to higher gamma frequencies showed that ketamine anaesthesia is distinguished from propofol by suppression of

EEG complexity in high gamma frequencies in the range of 65–175 Hz, which previous human studies using scalp EEG could not reveal (Pal et al., 2020). In the present study, by using intracranial electrodes in cats, we were able to study broadband (>0.5 Hz) signal complexity.

Contrary to the apparent convergence of psychedelics (LSD, *N,N*-dimethyltryptamine or DMT, psilocybin) reported (Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017), some of us (González et al., 2021) have shown that the effects of ibogaine, a psychedelic alkaloid, induces high gamma power but are less coherent and less complex than control condition and similar to natural REM sleep. Although some differences in the complexity measure or animal model may explain the difference, it is key to highlight that the ibogaine local complexity patterns were more consistent than those found in the current study, pointing to a different mode of action between alkaloid, serotonergic and *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) psychedelics.

Ketamine's primary mechanism of action is as an NMDA antagonist whose receptors are located quite ubiquitously across the cerebral cortex, as well as subcortically (Conti et al., 1994; Huntley et al., 1994). A differential interaction with various subtypes of NMDA receptors could explain the heterogeneity in cortical response under the effects of ketamine (Zanos et al., 2018). However, the non-NMDA receptor effects of ketamine cannot be discounted, in particular its interactions with opioid receptors and hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels (Chen et al., 2009; Zanos et al., 2018; Zhou et al., 2013). Additionally, ketamine may indirectly exert effects through its interaction with other circuits. Previous work reported that subanaesthetic doses of ketamine increased the release of not only 5-hydroxytryptamine (5-HT) (Amargós-Bosch et al., 2006; López-Gil et al., 2012, 2019) but also noradrenaline (Lorrain et al., 2003) as well as glutamate (Moghaddam et al., 1997) in the medial prefrontal cortex, which may increase signal complexity. At the receptor level, ketamine blocks excitatory NMDA receptors on fast-spiking cortical interneurons more effectively than those on pyramidal neurons. This results in down-regulation of interneuron activity, and decreased gamma aminobutyric acid (GABA) release at the interneuron–pyramidal neuron synapse (Homayoun & Moghaddam, 2007; Seamans, 2008). This decrease in inhibitory tone (decreased GABA release) results in markedly excited pyramidal neurons. It has been proposed that this may explain why ketamine is associated with increased cerebral glucose utilization and blood flow (Langsjo et al., 2005; Långsjö et al., 2004) and increased EEG gamma oscillations (Blain-Moraes et al., 2014; Castro-Zaballa et al., 2019; Ferrer-Allado et al., 1973; Lee

et al., 2013; Schwartz et al., 1974) and may also help us understand the changes observed in the complexity of the signal. However, our results show a decrease of LZ in somatosensory and posterior parietal cortices after the lowest dose of ketamine (Figure 3b). As both of these cortices process somatosensory information, our results may be due to a reduction in the somatosensory information influx, as one of the main effects of subanaesthetic doses of ketamine is analgesia (Zanos et al., 2018).

A further possible outcome for subanaesthetic doses of ketamine effects that we did not find evidence for is the increased locomotion, as found in rats (Hetzler & Wautlet, 1985). An increase in complexity compared with baseline was found for prefrontal and motor cortices, thus, a connection between this regional increase of LZ complexity and putative increased motor activity could be proposed as a possible explanation, however, as reported in our previous publication using the same dataset (Castro-Zaballa et al., 2019), the cats retained muscular tone but hyperlocomotion was not observed in our experiments, nor in previous studies in cats (Ambros & Duke, 2013; Issabeagloo et al., 2011).

The ongoing discussion about complexity as proxy to study integration in different consciousness states oscillates between perturbational and steady state studies. In a perturbational—complementary—study, Arena et al. (2021) quantified the complexity of electrocorticographic responses to intracranial electrical stimulation in rats, comparing wakefulness to propofol, sevoflurane, and ketamine anaesthesia using PCI and PCI state-transition (PCIST) (Comolatti et al., 2019). They found ketamine-induced evoked related potentials (ERPs) mixed features with a brief response followed by an OFF period (albeit long-lasting deterministic activations in half of the animals), and the duration of the resulting phase-locked response was close to that of wakefulness. The time course of PCIST revealed similarities to wakefulness but resulted in an overall reduction of complexity. These results from a perturbational study showed a similar feature to our “state” study in that the ketamine-induced effects are cortically variable and not consistent between animals. It is, however, difficult to compare this study directly with our results because we used subanaesthetic doses of ketamine (5, 10, and 15 mg/kg), whereas Arena et al., 2021 used anaesthetic doses of ketamine (30 mg/kg), so our hypotheses of higher complexity with low doses cannot be addressed in their study. On the other hand, they explored the effect of perturbational complexity index (PCI) which is an electrophysiological metric for the capacity of cortical circuits to integrate information, whereas we studied the effect of auditory stimulation on the naturally occurring and ongoing cortical complexity and hence the

complementarity of the findings should be encouraging for the field (Arena et al., 2021).

Neural diversity, assessed by LZ, is an attractive measure because of simplicity, practical applicability, and it is consistent with both complexity-based (Tononi et al., 2016; Tononi & Edelman, 1998) and entropy-based (Carhart-Harris, 2018; Carhart-Harris et al., 2014) theories of neural integration and consciousness. The measure is also useful in questions regarding local processing as it is computed at the electrode level, thus was able to demonstrate differential effects in distinct thalamic and cortical brain regions. Indeed, according to the dynamic core hypothesis (Tononi & Edelman, 1998) and subsequent theoretical developments such as Information Integration Theory (Tononi et al., 2016), only certain distributed subsets of the neuronal groups that are activated or deactivated in response to a given task are associated with conscious experience, therefore a large cluster of neuronal groups that together constitute, on a time scale of hundreds of milliseconds, a unified neural process of high complexity can be termed the “dynamic core.” In line with this idea, our results could be interpreted as the prefrontal and auditory cortices, where an increase in LZ was observed under the 5 mg dose of ketamine, constituting a part of the “dynamic core,” and somatosensory and posterior parietal cortices playing a different role in neural integration. However, our results do not necessarily provide strong evidence for the “dynamic core” over other theoretical interpretations such the entropic brain (Carhart-Harris, 2018) or other complexity and consciousness frameworks (Sarasso et al., 2021), possibly because the predictions from most frameworks are less precise and hardly predict the specific pattern of results we present. Furthermore, there are complementary approaches to understand information and complexity dynamics, both using state and perturbational experimental and analyses models and frameworks that illustrate the underdeveloped integration of the theories and experiments in this subdiscipline. Another interpretation of the overall ketamine dose–response results, its variance and dynamics, is that it could reflect a level of connection to the external environment interacting with the pharmacological modulation. We however did not systematically assess this behavioural aspect, and hence, it is difficult to draw conclusions at that level.

Another useful framework for understanding these results is the neuroscience of arousal, including wakefulness, sleep, circadian rhythms, responsiveness, and alertness (Bekinschtein et al., 2009; Brown et al., 2011). Sleep shows a clear change in arousal throughout the day cycle; the intensity of the stimuli needed to wake up a person is maximal in deep sleep and lower in light sleep and REM. This pattern partially mimics the results obtained for

informational complexity in this study using electrocorticogram recordings (ECoG), and several other nonlinear measures such as fractal dimension and other entropy methods (Ma et al., 2018), but not to other measures such as power in different bands and connectivity methods. This finding allows us to interpret that LZ may index behaviourally defined wakefulness, or arousability by stimuli (Bonnet et al., 1978). Although ketamine is used as an anaesthetic and creates unconsciousness in high doses and hence can be framed in terms of consciousness as wakefulness and arousal, the effects at lower doses require a multidimensional framework, able to accommodate neurological symptoms (dizziness, slurred speech), mood modulations, and psychedelic experiences. In principle, if ketamine had the classic profile of a sedative, responsiveness would monotonically decrease (Brown et al., 2011) and a similar profile would be expected for molecular and neural measures. However, ketamine has an interesting profile as it belongs to a group of hypnotics that show hallucinatory capacities and a hormetic or U-shaped curve (Calabrese & Baldwin, 2001) in EEG and blood flow (Cavazzuti et al., 1987; Tsuda et al., 2007). The hormesis of the dose response allows for the comparison of not only conscious level in the sense of wakefulness but in terms of contents of consciousness in low ketamine and REM sleep. From humans, we know that the likelihood of increased richness in mental content during the sleep–wake cycle occurs during REM (Windt & Noreika, 2011) after a decrease in NREM (U-shaped), and we know that the richness of mental content, including hallucinations, peaks early with ketamine before decreasing into sedation and anaesthesia (Powers et al., 2015) (an inverted U-shaped curve). In both cases, the higher levels of content agree with the higher (or recovering) levels of informational complexity as measured by LZ (Abásolo et al., 2015; Mateos et al., 2018; Schartner et al., 2015; Schartner, Carhart-Harris, et al., 2017; Schartner, Pigorini, et al., 2017). In this study, we compare the consistency of the complexity in the cortex in sleep and the diversity in the ketamine challenge as two putatively very different mechanisms of reaching a higher level of content in consciousness.

Recent findings by Mediano et al. (2020) provide strong quantitative evidence on how environmental conditions have a substantial influence on neural dynamics during a psychedelic experience in humans. This work showed how brain entropy is modulated by stimulus manipulation during a psychedelic experience by studying participants under the effects of LSD or placebo, either with gross state changes (eyes closed vs. open) or different stimuli (no stimulus vs. music vs. video). Results showed that while brain entropy increased with LSD in

all the experimental conditions, it exhibited largest changes when subjects have their eyes closed, whereas the entropy enhancing effects of LSD were less marked when participants opened their eyes or perceived external stimuli—such as music or video (Mediano et al., 2020). In the present work, we studied the modulation of auditory stimulation on brain complexity in basal conditions and under increasing doses of ketamine in three cats using ECoG recordings with the hypothesis of observing a higher level of complexity under stimulation. However, only a slight increase in LZ was evidenced during stimulation in dorsolateral prefrontal and auditory cortices, whereas a complete lack of or very weak effect were found in the other cortices studied (Figure 4). This weak effect may be explained by the low relevance of the stimulus, as it failed to catch the attention of the animals, compared with extremely salient or meaningful stimuli such as music or video. Further evidence that stimulation studies should exploit more complex stimuli also comes from a recent study where TMS pulses also failed to increase complexity in low doses of ketamine in humans (Farnes et al., 2020). Furthermore, Nilsen et al. (2019) were unable to demonstrate an influence of attention in LZ complexity after stimulation, whereas we have reported (Mediano et al., 2020) that LZ is modulated when applying different types of stimulation (music and videos). Additionally, we have recently shown (Mediano et al., 2021) that LZ varies with the level of alertness and also depending on the task, not being restricted to measure the level of consciousness but cognitive and attentional demands.

New experiments using more appropriate stimuli in terms of relevance and salience are needed to better address this hypothesis and further the experimental understanding neural dynamics of information theory, complexity and entropy as the system is modulated pharmacologically.

Our sleep results are consistent with previous results in humans (Andrillon et al., 2016; Schartner, Pigorini, et al., 2017), as well as in rats (Abásolo et al., 2015). However, a closer read shows some differences: Andrillon et al. (2016) reported a small but reliable decrease in LZ during REM sleep compared with the waking state, possibly due to participants engaged in a task during the waking state, whereas the participants in the Schartner et al. study were simply at rest with eyes closed and not engaged or externally driven by task or stimuli. In our study the animals were also at rest but with eyes open and showed a decrease in LZ during LS and further decrease in SWS, which was similar for all cortices (Figure 2a) in line with previous findings (Andrillon et al., 2016; Schartner, Pigorini, et al., 2017). However, a greater variability was evident for REM sleep state where

in some cortices LZ was equal in level of complexity to wakefulness whereas in others it was similar to LS or to SWS (Figure 2b). The complexity pattern among sleep stages observed in the cortex was also evidenced in the lateral geniculate nucleus (Figure 2a), lending clear convergent evidence to the common effects of informational complexity in the brain beyond the cortex for the sleep wake cycle.

In summary, our data demonstrate that there is a dose-dependent ketamine effect on neural complexity. An increase in complexity compared with baseline was found for some cortices (prefrontal, motor, auditory, and visual) only in the lowest doses, whereas the higher dose frequently showed the lowest informational complexity. However, a decrease in complexity was also seen in somatosensory and posterior parietal cortex in the low doses. The heterogeneity of the ketamine effects between cats and cortices contrasts with the homogeneity of the changes in complexity seen for different stages of sleep, further highlighting the differences between natural and pharmacologically induced changes in consciousness. The individual and cortical variability in the neural complexity dynamics revealed by ketamine highlights the intricacy of the brain when altered by dissociatives and psychedelics, pushing for a multidimensional framework beyond simple arousal and alertness parameters to characterize the change in the states of consciousness from a neuropharmacological perspective.

4 | METHODS

4.1 | Animals

Five adult cats were used in this study, all of whom were also utilized in a previous report (Castro-Zaballa et al., 2019). The animals were obtained from and determined to be in good health by the Institutional Animal Care Facility of the Faculty of Medicine (University of the Republic, Uruguay). All experimental procedures were conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th edition, National Academy Press, Washington DC, 2011) and were approved by Institutional and National Animal Care Commissions of the University of the Republic in Uruguay (Protocol No. 070153000089-17). Adequate measures were taken to minimize pain, discomfort or stress to the animals. In addition, all efforts were made to use the minimum number of animals necessary to produce reliable scientific data.

4.2 | Surgical procedure

Following general anaesthesia, the head was positioned in a stereotaxic frame and the skull was exposed. Stainless steel screw electrodes (1.4 mm diameter) were placed on the surface (above the dura matter) of different cortical areas including prefrontal, primary motor, primary somatosensory, and posterior parietal cortices. Note that because the animals were not prepared specifically for this work, we did not analyse the same cortices in all of them. The electrodes were connected to a Winchester plug, which together with two plastic tubes were bonded to the skull with acrylic cement in order to maintain the animals' head in fixed position without pain or pressure. After recovery from surgical procedures, they were adapted to the recording environment for a period of at least 2 weeks.

4.3 | Data acquisition and preprocessing

Experimental sessions of 4 h were conducted between 11 AM and 3 PM in a temperature-controlled environment (21–23°C). During these sessions (as well as during the adaptation sessions), the animals' head was held in a stereotaxic position by four steel bars that were placed into the chronically implanted plastic tubes, whereas the body rested in a sleeping bag (semirestricted condition).

The ECoG activity was recorded with a monopolar (referential) configuration, utilizing a common reference electrode located in the left frontal sinus. The experiments on sleep and ketamine were performed on the same cats but not the same cortices were recorded as they were originally designed for different studies. The electromyogram (EMG) of the nuchal muscles, which was recorded by means of an acutely placed bipolar electrode, was also monitored. The electrocardiogram (ECG), by electrodes acutely placed on the skin over the pre-cordial region, and respiratory activity by means of a micro-effort piezo crystal infant sensor were also recorded. Each cat was recorded daily for ~30 days in order to obtain complete basal and treatment data sets. The animal retained muscular tone but hyperlocomotion was not observed in our experiments (Castro-Zaballa et al., 2019), nor in previous studies in cats (Issabeagloo et al., 2011), an increase in motor activity was also absent in semirestricted condition, and ~5 min following the injection of ketamine the animals lay down on the floor unable to stand up (i.e., an ataxia-like effect), but responded to sound stimulus directing the gaze towards the sound source. In the absence of stimuli, the cats moved their head from one side to the other (i.e., a head-weaving-like behaviour,

described in rodents, and defined as stereotypies characterized as lateral side-to-side movement of the head without locomotion).

Bioelectric signals were amplified ($\times 1000$), filtered (0.1–500 Hz), sampled (1024 Hz, 2^{16} bits) and stored in a PC using the Spike 2 software (Cambridge Electronic Design).

Data were obtained after ketamine administration as well as during spontaneously occurring quiet W, LS, NREM sleep and REM sleep (Figure 1). Five, 10, and 15 mg/kg i.m. of ketamine (Ketonal[®], Richmond Veterinaria S.A.) were administered to five animals in 4 different sessions. These three doses were administered in each animal in different experimental sessions performed in different days in a counterbalanced order. The scheme illustrated in Figure 1b corresponds to one session, in which only one bolus of ketamine was administered. In each session, the animal was recorded in resting conditions for around 30 min and then the bolus of ketamine was injected. After that, the recording continued for 4 h. Ten minutes after the injection the cat received auditory stimulation (in three of the five cats). The different doses of ketamine were administered in different days leaving 3 or 4 days in between. Additionally, each different dose was repeated four times. In each session, the whole experiment illustrated in Figure 1b was repeated; therefore, in total, the experiments were repeated 12 times (four per dose). Ketamine (50 mg/ml) was diluted in benzethonium chloride, hydrochloric acid, and water (solution for veterinary use). Basal recordings (without injections) were used as control. Sound stimuli were introduced ~ 30 min after the beginning of the recording sessions in drug-free condition and 10 min after ketamine injection. These sound stimuli had the same characteristics as those used to induce active W (Castro et al., 2013). Sound stimuli was presented for a period of 300 s, and consisted of 60–100 dB SPL clicks, with variable frequency of presentation (1–500 Hz), modified at random in order to avoid habituation (Castro et al., 2013; Tortorolo et al., 2003). The mentioned frequency refers to the frequency of presentation of the clicks and not the sound frequency. There were no frequency steps, and the SPL had no steps. Sound stimuli during 300 s were also performed 10 min after ketamine injection in three cats. The stimuli were square pulses produced with an electric stimulator connected to a speaker which emit them as clicks.

For preprocessing, sleep stages were scored off-line by visual inspection of 5-s epochs in Spike2 software, where the ECoG and EMG were displayed simultaneously. In order to analyse LZ during sleep, a total of 300 artefact-free seconds data were selected from each behavioural

state. Additionally, to study LZ during the Ketamine effect 300 s duration segments, with and without stimulation, were selected before and after ketamine administration.

After scoring, for both experiments, the selected epochs were exported to MATLAB for further preprocessing. The MATLAB toolbox eeglab was used to filter the data (0.5–200 Hz band-pass). Each epoch was visually inspected, and those with gross artefacts (e.g., movements) were removed from the analysis.

4.4 | LZ complexity

In this study, we used LZ complexity to compute the complexity of measured neural signals (Lempel & Ziv, 1976). In particular, we used the LZ78 algorithm (Ziv & Lempel, 1978), which corresponds to the standard word-dictionary implementation: given a binary string, the algorithm scans it sequentially looking for distinct structures or “patterns.” The more diverse the binary string, the more patterns are included in the dictionary (a sequence containing only zeros or only ones would lead to the minimal number of patterns being obtained). The total number of these patterns is a measure of signal diversity.

To compute LZ from our experimental data, the recording of each channel was split into segments of 5120 samples (5 s sampled at 1024 Hz). Then, to generate a discrete sequence from a real-valued signal X of length T , X is detrended and binarized with a threshold of 0, and the resulting binary sequence is fed to the LZ78 algorithm. Finally, the resulting dictionary length L is normalized as

$$C = \frac{\log_2 L}{T} L,$$

to yield a measure of complexity C .

Our choice on binarizing signals with a threshold of zero was driven by two factors: (1) LZ and related methods tend to be remarkably robust to the choice of discretisation procedure and number of bins (see, e.g., discussion in Mediano et al., 2020); and (2) the Hilbert transform of a very broadband signal is not easily interpretable, and to create a meaningful analytic signal, it would be necessary to bandpass filter the data in a particular frequency band of interest. Given these two arguments, we reasoned that the added analysis complexity introduced by the filter parameters, frequency bands, and so forth would not lead to substantially richer or more accurate results, and thus opted for the simple (yet probably effective) methodology.

4.5 | Statistics

One way ANOVA, with Tukey post-hoc test were used to compare LZ between sleep stages per cortex per animal (Figure 2b) where Cohen's d was used to address the size of the effect. Additionally, a multilevel approach as well as Bayes factors (BF) and Bayesian informational criterion (BIC) were used to find the most likely explanatory model within the hierarchical model in the group statistical analysis comparing linear, quadratic, and cubic models. For sleep study, the state of sleep was used as a fixed effect and the cat identity as a random effect. The same type of approach was used to study the ketamine effect among different cortices under control and stimulus conditions. In this case, the dose and stimulus (if present) were used as fixed effects; and cat identity and session as random effects. The interaction between stimuli and ketamine dose was also included in the model when studying the modulation by stimulus. All models were estimated via restricted maximum likelihood, using the open-source packages lme4 v.1.1-21 (Bates et al., 2015) and lmerTest v.3.1-1 (Kuznetsova et al., 2017) on R v.3.6.1.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the "Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas, PEDECIBA" and the "Comisión Sectorial de Investigación Científica" (CSIC) I + D-2020-393 grant from Uruguay. PAM and DB are funded by the Wellcome Trust (grant no. 210920/Z/18/Z).

CONFLICT OF INTERESTS

The authors have declared that no conflict of interests exist.

AUTHOR CONTRIBUTION

P.T. and T.B. designed the study. C.Z.S. and P.T. performed the experiments and collected the data. C.P. and P.M. analysed data; M.P. and P.M. wrote LZ codes; C.P. wrote the manuscript; all authors participated in the interpretation of results and revision of the manuscript and approved the final version of the manuscript. P.T., T.B., and D.B. provided the financial support.

PEER REVIEW

The peer review history for this article is available at <https://publons.com/publon/10.1111/ejn.15646>.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The code for computation of LZ used for analysis is available in GitHub at the following link: <https://gitlab.com/CPasco83/sleep-and-ketamine>. Data are available upon reasonable request to the authors.

ORCID

Claudia Pascovich  <https://orcid.org/0000-0003-2899-306X>

Pedro A. M. Mediano  <https://orcid.org/0000-0003-1789-5894>

REFERENCES

- Abásolo, D., Simons, S., Morgado da Silva, R., Tononi, G., & Vyazovskiy, V. V. (2015). Lempel-Ziv complexity of cortical activity during sleep and waking in rats. *Journal of Neurophysiology*, 113(7), 2742–2752. <https://doi.org/10.1152/jn.00575.2014>
- Amargós-Bosch, M., López-Gil, X., Artigas, F., & Adell, A. (2006). Clozapine and olanzapine, but not haloperidol, suppress serotonin efflux in the medial prefrontal cortex elicited by phencyclidine and ketamine. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 9(5), 565–573. <https://doi.org/10.1017/S1461145705005900>
- Ambros, B., & Duke, T. (2013). Effect of low dose rate ketamine infusions on thermal and mechanical thresholds in conscious cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 40, 76–82. <https://doi.org/10.1111/vaa.12057>
- Andrillon, T., Poulsen, A. T., Hansen, L. K., Léger, D., & Kouider, S. (2016). Neural markers of responsiveness to the environment in human sleep. *Journal of Neuroscience*, 36(24), 6583–6596. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0902-16.2016>
- Arena, A., Comolatti, R., Thon, S., Casali, A. G., & Storm, J. F. (2021). General anesthesia disrupts complex cortical dynamics in response to intracranial electrical stimulation in rats. *ENeuro*, 8(4), ENEURO.0343-20.2021. <https://doi.org/10.1523/ENeuro.0343-20.2021>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. M., & Walker, S. C. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Bekinschtein, T., Colgan, V., Dahmen, B., & Golombek, D. (2009). You are only coming through in waves: Wakefulness variability and assessment in patients with impaired consciousness. *Progress in Brain Research*, 177, 171–189. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(09\)17712-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(09)17712-9)
- Blain-Moraes, S., Lee, U., Ku, S., Noh, G., & Mashour, G. A. (2014). Electroencephalographic effects of ketamine on power, cross-frequency coupling, and connectivity in the alpha bandwidth. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8, 114. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00114>
- Bonnet, M., Hohnson, L., & Webb, W. (1978). The reliability of arousal threshold during sleep. *Psychophysiology*, 15(5), 412–416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1978.tb01407.x>
- Brown, E. N., Purdon, P. L., & Van Dort, C. J. (2011). General anesthesia and altered states of arousal: A systems neuroscience analysis. *Annual Review of Neuroscience (Palo Alto, CA)*, 34, 601–628. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-060909-153200>
- Calabrese, E. J., & Baldwin, L. A. (2001). Hormesis: A generalizable and unifying hypothesis. *Critical Reviews in Toxicology*, 31(4–5), 353–424. <https://doi.org/10.1080/20014091111730>
- Carhart-Harris, R. L. (2018). The entropic brain—Revisited. *Neuropharmacology*, 142, 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.03.010>
- Carhart-Harris, R. L., Kaelen, M., Bolstridge, M., Williams, T. M., Williams, L. T., Underwood, R., Feilding, A., & Nutt, D. J.

- (2016). The paradoxical psychological effects of lysergic acid diethylamide (LSD). *Psychological Medicine*, 46(7), 1379–1390. <https://doi.org/10.1017/S0033291715002901>
- Carhart-Harris, R. L., Leech, R., Hellyer, P. J., Shanahan, M., Feilding, A., Tagliazucchi, E., Chialvo, D. R., & Nutt, D. (2014). The entropic brain: A theory of conscious states informed by neuroimaging research with psychedelic drugs. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8(20), 1–22. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00020>
- Casali, A. G., Gosseries, O., Rosanova, M., Boly, M., Sarasso, S., Casali, K. R., Casarotto, S., Bruno, M. A., Laureys, S., Tononi, G., & Massimini, M. (2013). A theoretically based index of consciousness independent of sensory processing and behavior. *Science Translational Medicine*, 5(198), 198ra105. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006294>
- Castro, S., Falconi, A., Chase, M. H., & Torterolo, P. (2013). Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. *European Journal of Neuroscience*, 37(8), 1330–1339. <https://doi.org/10.1111/ejn.12143>
- Castro-Zaballa, S., Cavelli, M. L., Gonzalez, J., Nardi, A. E., Machado, S., Scorza, C., & Torterolo, P. (2019). EEG 40 Hz coherence decreases in REM sleep and ketamine model of psychosis. *Frontiers in Psychiatry*, 10, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2018.00766>
- Cavazzuti, M., Porro, C. A., Biral, G. P., Benassi, C., & Barbieri, G. C. (1987). Ketamine effects on local cerebral blood flow and metabolism in the rat. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 7, 806–811. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1987.138>
- Chen, X., Shu, S., & Bayliss, D. A. (2009). HCN1 channel subunits are a molecular substrate for hypnotic actions of ketamine. *Journal of Neuroscience*, 29(3), 600–609. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3481-08.2009>
- Comolatti, R., Pigorini, A., Casarotto, S., Fecchio, M., Faria, G., Sarasso, S., Rosanova, M., Gosseries, O., Boly, M., Bodart, O., Ledoux, D., Brichant, J. F., Nobili, L., Laureys, S., Tononi, G., Massimini, M., & Casali, A. G. (2019). A fast and general method to empirically estimate the complexity of brain responses to transcranial and intracranial stimulations. *Brain Stimulation*, 12(5), 1280–1289. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.05.013>
- Conti, F., Minelli, A., Molnar, M., & Brecha, N. C. (1994). Cellular localization and laminar distribution of NMDAR1 mRNA in the rat cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 343(4), 554–565. <https://doi.org/10.1002/cne.903430406>
- Farnes, N., Bjørn, E. J., Nilsen, A. S., Romundstad, L. G., & Storm, J. F. (2020). Increased signal diversity/complexity of spontaneous EEG, but not evoked EEG responses, in ketamine-induced psychedelic state in humans. *PLoS ONE*, 23, e0242056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242056>
- Ferenets, R., Lipping, T., Anier, A., Jäntti, V., Melto, S., & Hovilehto, S. (2006). Comparison of entropy and complexity measures for the assessment of depth of sedation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 53(6), 1067–1077. <https://doi.org/10.1109/TBME.2006.873543>
- Ferenets, R., Vanluchene, A., Lipping, T., & Heyse, B. (2007). Behavior of entropy/complexity measures of the electroencephalogram during propofol-induced sedation. *Anesthesiology*, 106(4), 696–706.
- Ferrer-Allado, T., Brechner, V. L., Dymond, A., Cozen, H., & Crandall, P. (1973). Ketamine-induced electroconvulsive phenomena in the human limbic and thalamic regions. *Anesthesiology*, 38(4), 333–344.
- González, J., Cavelli, M., Castro-Zaballa, S., Mondino, A., Tort, A. B. L., Rubido, N., Carrera, I., & Torterolo, P. (2021). EEG gamma band alterations and REM-like traits underpin the acute effect of the atypical psychedelic ibogaine in the rat. *ACS Pharmacology and Translational Science*, 4(2), 517–525. <https://doi.org/10.1021/acspsci.0c00164>
- González, J., Cavelli, M., Mondino, A., Pascovich, C., Castro-Zaballa, S., Torterolo, P., & Rubido, N. (2019). Decreased electrocortical temporal complexity distinguishes sleep from wakefulness. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54788-6>
- Hetzler, B. E., & Wautlet, B. S. (1985). Ketamine-induced locomotion in rats in an open-field. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22, 653–655.
- Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2007). NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 27, 11496–11500. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2213-07.2007>
- Huntley, G. W., Vickers, J. C., Janssen, W., Brose, N., Heinemann, S. F., & Morrison, J. H. (1994). Distribution and synaptic localization of immunocytochemically identified NMDA receptor subunit proteins in sensory-motor and visual cortices of monkey and human. *Journal of Neuroscience*, 14(6), 3603–3619. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.14-06-03603.1994>
- Ishizawa, Y., Ahmed, O. J., Patel, S. R., Gale, J. T., Sierra-Mercado, D., Brown, E. N., & Eskandar, E. N. (2016). Dynamics of propofol-induced loss of consciousness across primate neocortex. *Journal of Neuroscience*, 36(29), 7718–7726. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4577-15.2016>
- Issabeagloo, E., Gharachorlou, A. A., & Ghalahkandi, J. G. (2011). Comparison of sedative effects of oral ketamine & chlorpheniramine in the manner. *Advances in Environmental Biology*, 5(4), 784–789.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: Tests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*, 82(13), 1–26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Langsjo, J. W., Maksimow, A., Salmi, E., Kaisti, K., Aalto, S., Oikonen, V., Hinkka, S., Aantaa, R., Sipila, H., Viljanen, T., & Parkkola, R. (2005). S-ketamine anesthesia increases cerebral blood flow in excess of the metabolic needs in humans. *Anesthesiology*, 103(2), 258–268. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed7&NEWS=N&AN=2005346193>
- Långsjö, J. W., Salmi, E., Kaisti, K. K., Aalto, S., Hinkka, S., Aantaa, R., Oikonen, V., Viljanen, T., Kurki, T., Silvanto, M., & Scheinin, H. (2004). Effects of subanesthetic ketamine on regional cerebral glucose metabolism in humans. *Anesthesiology*, 100(5), 1065–1071. <https://doi.org/10.1097/0000542-200405000-00006>
- Lee, U., Ku, S., Noh, G., Baek, S., Choi, B., & Mashour, G. A. (2013). Disruption of frontal-parietal communication by ketamine, propofol, and sevoflurane. *Anesthesiology*, 118, 1264–1275. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31829103f5>

- Lempel, A., & Ziv, J. (1976). On the complexity of finite sequences. *IEEE Transactions on Information Theory*, 22(1), 75–81. <https://doi.org/10.1109/TIT.1976.1055501>
- Li, D., & Mashour, G. A. (2019). Cortical dynamics during psychedelic and anesthetized states induced by ketamine. *NeuroImage*, 196, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.03.076>
- López-Gil, X., Jiménez-Sánchez, L., Campa, L., Castro, E., Frago, C., & Adell, A. (2019). Role of serotonin and noradrenaline in the rapid antidepressant action of ketamine. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(7), 3318–3326. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.9b00288>
- López-Gil, X., Jiménez-Sánchez, L., Romón, T., Campa, L., Artigas, F., & Adell, A. (2012). Importance of inter-hemispheric prefrontal connection in the effects of non-competitive NMDA receptor antagonists. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(7), 945–956. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001064>
- Lorrain, D. S., Schaffhauser, H., Campbell, U. C., Baccei, C. S., Correa, L. D., Rowe, B., Rodriguez, D. E., Anderson, J. J., Varney, M. A., Pinkerton, A. B., Vernier, J. M., & Bristow, L. J. (2003). Group II mGlu receptor activation suppresses norepinephrine release in the ventral hippocampus and locomotor responses to acute ketamine challenge. *Neuropsychopharmacology*, 28(9), 1622–1632. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300238>
- Ma, Y., Shi, W., Peng, C. K., & Yang, A. C. (2018). Nonlinear dynamical analysis of sleep electroencephalography using fractal and entropy approaches. *Sleep Medicine Reviews*, 37, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2017.01.003>
- Mateos, D. M., Guevara Erra, R., Wennberg, R., & Perez Velazquez, J. L. (2018). Measures of entropy and complexity in altered states of consciousness. *Cognitive Neurodynamics*, 12(1), 73–84. <https://doi.org/10.1007/s11571-017-9459-8>
- Mediano, P. A. M., Ikkala, A., Kievit, R. A., Jagannathan, S. R., Varley, T. F., Stamatakis, E. A., Bekinschtein, T. A., & Bor, D. (2021). Fluctuations in neural complexity during wakefulness relate to conscious level and cognition. *BioRxiv*.
- Mediano, P. A. M., Rosas, F. E., Timmermann, C., Roseman, L., Nutt, D. J., Feilding, A., Kaelen, M., Kringelbach, M. L., Barrett, A. B., Seth, A. K., Muthukumaraswamy, S., Bor, D., & Carhart-Harris, R. L. (2020). Effects of external stimulation on psychedelic state neurodynamics. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.11.01.356071>
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., & Daly, D. (1997). Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: A novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 17(8), 2921–2927. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-08-02921.1997>
- Nilsen, A. S., Juel, B. E., & Storm, J. F. (2019). Measures of states of consciousness during attentional and cognitive load. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/586149>
- Pal, D., Li, D., Dean, J. G., Brito, M. A., Liu, T., Fryzel, A. M., Hudetz, A. G., & Mashour, G. A. (2020). Level of consciousness is dissociable from electroencephalographic measures of cortical connectivity, slow oscillations, and complexity. *Journal of Neuroscience*, 40(3), 605–618. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1910-19.2019>
- Pascovich, C., Castro, S., Velasquez, N., Bor, D., Canales-Johnson, A., Torterolo, P., & Bekinschtein, T. A. (2019). Complexity of cortical activity under subanesthetic doses of ketamine and during sleep. <https://doi.org/10.1101/2019.03.07.288101>
- Powers, A. R., Gancsos, M. G., Finn, E. S., Morgan, P. T., & Corlett, P. R. (2015). Ketamine-induced hallucinations. *Psychopathology*, 48(6), 376–385. <https://doi.org/10.1159/000438675>
- Sarasso, S., Boly, M., Napolitani, M., Gosseries, O., Charland-Verville, V., Casarotto, S., Rosanova, M., Casali, A. G., Brichant, J. F., Boveroux, P., Rex, S., Tononi, G., Laureys, S., & Massimini, M. (2015). Consciousness and complexity during unresponsiveness induced by propofol, xenon, and ketamine. *Current Biology*, 25(23), 3099–3105. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.014>
- Sarasso, S., Casali, A. G., Casarotto, S., Rosanova, M., Sinigaglia, C., & Massimini, M. (2021). Consciousness and complexity: A consilience of evidence. *Neuroscience of Consciousness*, 7, 1–24. <https://doi.org/10.1093/nc/niab023>
- Schartner, M., Seth, A., Noirhomme, Q., Boly, M., Bruno, M. A., Laureys, S., & Barrett, A. (2015). Complexity of multi-dimensional spontaneous EEG decreases during propofol induced general anaesthesia. *PLoS ONE*, 10(8), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133532>
- Schartner, M. M., Carhart-Harris, R. L., Barrett, A. B., Seth, A. K., & Muthukumaraswamy, S. D. (2017). Increased spontaneous MEG signal diversity for psychoactive doses of ketamine, LSD and psilocybin. *Scientific Reports*, 7, 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep46421>
- Schartner, M. M., Pigorini, A., Gibbs, S. A., Arnulfo, G., Sarasso, S., Barnett, L., Nobili, L., Massimini, M., Seth, A. K., & Barrett, A. B. (2017). Global and local complexity of intracranial EEG decreases during NREM sleep. *Neuroscience of Consciousness*, 2017, niw022. <https://doi.org/10.1093/nc/niw022>
- Schwartz, M. S., Viden, S., & Scott, D. F. (1974). Effects of ketamine on the electroencephalograph. *Anaesthesia*, 29(2), 135–140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1974.tb00611.x>
- Seamans, J. (2008). Losing inhibition with ketamine. *Nature Chemical Biology*, 4(2), 91–93. <https://doi.org/10.1038/nchembio0208-91>
- Tagliazucchi, E., Carhart-Harris, R., Leech, R., Nutt, D., & Chialvo, D. R. (2014). Enhanced repertoire of brain dynamical states during the psychedelic experience. *Human Brain Mapping*, 35(11), 5442–5456. <https://doi.org/10.1002/hbm.22562>
- Timmermann, C., Roseman, L., Schartner, M., Milliere, R., Williams, L. T. J., Erritzoe, D., Muthukumaraswamy, S., Ashton, M., Bendrioua, A., Kaur, O., Turton, S., Nour, M. M., Day, C. M., Leech, R., Nutt, D. J., & Carhart-Harris, R. L. (2019). Neural correlates of the DMT experience assessed with multivariate EEG. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51974-4>
- Tononi, G., Boly, M., Massimini, M., & Koch, C. (2016). Integrated information theory: From consciousness to its physical substrate. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(7), 450–461. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.44>
- Tononi, G., & Edelman, G. M. (1998). Consciousness and complexity. *Science*, 282(5395), 1846–1851. <https://doi.org/10.1126/science.282.5395.1846>
- Torterolo, P., Yamuy, J., Sampogna, S., Morales, F. R., & Chase, M. H. (2003). Hypocretinergic neurons are primarily involved in activation of the somatomotor system. *Sleep*, 26(1), 25–28. <https://doi.org/10.1093/sleep/26.1.25>

- Tsuda, N., Hayashi, K., Hagiwara, S., & Sawa, T. (2007). Ketamine, an NMDA-antagonist, increases the oscillatory frequencies of α -peaks on the electroencephalographic power spectrum. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 51(4), 472–481. <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2006.01246.x>
- Windt, J. M., & Noreika, V. (2011). How to integrate dreaming into a general theory of consciousness—A critical review of existing positions and suggestions for future research. *Consciousness and Cognition*, 20(4), 1091–1107. <https://doi.org/10.1016/j.concog.2010.09.010>
- Zanos, P., Moaddel, R., Morris, P. J., Riggs, L. M., Highland, J. N., Georgiou, P., Pereira, E. F. R., Albuquerque, E. X., Thomas, C. J., Zarate, C. A., & Gould, T. D. (2018). Ketamine and ketamine metabolite pharmacology: Insights into therapeutic mechanisms. *Pharmacological Reviews*, 70(3), 621–660. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015198>
- Zhang, X. S., Roy, R. J., & Jensen, E. W. (2001). EEG complexity as a measure of depth of anesthesia for patients. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 48(12), 1424–1433. <https://doi.org/10.1109/10.966601>
- Zhou, C., Douglas, J. E., Kumar, N. N., Shu, S., Bayliss, D. A., & Chen, X. (2013). Forebrain HCN1 channels contribute to hypnotic actions of ketamine. *Anesthesiology*, 118(4), 785–795. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318287b7c8>
- Ziv, J., & Lempel, A. (1978). Compression of individual sequences via variable-rate coding. *IEEE Transactions on Information Theory*, 24(5), 530–536.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found in the online version of the article at the publisher's website.

How to cite this article: Pascovich, C., Castro-Zaballa, S., Mediano, P. A. M., Bor, D., Canales-Johnson, A., Torterolo, P., & Bekinschtein, T. A. (2022). Ketamine and sleep modulate neural complexity dynamics in cats. *European Journal of Neuroscience*, 55(6), 1584–1600. <https://doi.org/10.1111/ejn.15646>