Potencia y coherencia de la banda gamma (30-100 Hz) de frecuencias del EEG durante el ciclo sueño y vigilia

> Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas Opción Neurociencias Pedeciba Biología UdelaR.

> > Lic. Matías Cavelli Septiembre de 2015

Orientador: Dr. Pablo Torterolo Minetti

Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen

En los mamíferos se distinguen tres estados comportamentales: vigilia, sueño lento y sueño REM (sREM). La vigilia se caracteriza por ondas eléctricas de baia amplitud alta frecuencia del ٧ electroencefalograma (EEG). El sueño lento presenta ritmos eléctricos lentos y de mayor amplitud en el EEG. La actividad cognitiva en este estado es prácticamente nula. El sREM o "paradójico" en cambio, se caracteriza por una actividad de mayor frecuencia y menor amplitud del EEG similar a la vigilia, existiendo una completa pérdida del tono muscular. Es en esta etapa donde ocurren principalmente los ensueños. Los ensueños o ensoñaciones se consideran un tipo especial de actividad cognitiva o protoconciencia.

Reportes antiguos y recientes señalan similitudes cualitativas y cuantitativas entre algunas características del sREM y el estado mental de la psicosis. De hecho, actualmente el sREM es considerado por algunos investigadores como un modelo natural de psicosis. Una de las características compartidas entre el sREM, los modelos farmacológicos de psicosis y los estudios realizados en pacientes psicóticos son los cambios en la actividad eléctrica cortical especialmente en la banda gamma de frecuencias (30-100 Hz). A las oscilaciones del EEG que se observan en el rango de frecuencia de 30 a 100 Hz se le denomina actividad u oscilaciones gamma. Las oscilaciones gamma se encuentran fuertemente vinculadas a las funciones cognitivas e incluso se postula que la coherencia gamma entre áreas distantes de la corteza es un correlato neural de la conciencia. Recientemente encontramos que, en gatos, la coherencia gamma entre áreas distantes de la neocorteza disminuye durante el sueño y que esta es mínima durante el sREM.

Particularmente, el déficit de coherencia en la banda gamma de frecuencias entre áreas corticales distantes durante el sREM, nos hace pensar que las características de los ensueños se deben a la pérdida de sincronización de la actividad eléctrica cerebral, y quizás esto también se encuentre en la base de los eventos psicóticos clínicos.

Nuestro objetivo fue estudiar la actividad gamma del EEG durante el ciclo normal de sueño y vigilia, empleando a la rata como modelo animal. Para esto utilizamos los análisis de potencia espectral y coherencia electroencefalográfica entre diferentes áreas cerebrales como índices de sincronización local y de largo rango, respectivamente. A su vez, de la misma manera que en ratas, se re-analizaron registros polisomnográficos de gatos

obtenidos de trabajos previos realizados por nuestro grupo.

Las ratas se prepararon para registros polisomnográficos crónicos con electrodos monopolares sobre cortezas. las Se realizaron sesiones de registro en condiciones de libre movimiento. Se registró en simultáneo la actividad de varias áreas corticales, la actividad eléctrica muscular y el registro de video. La actividad gamma fue analizada en los estados de vigilia, sueño lento y sREM. Las diferencias en los valores de potencia y coherencia entre diferentes estados comportamentales fueron evaluadas mediante el test ANOVA y "post hoc" Tamhane.

Los resultados muestran que:

- durante el sueño REM de la rata existe una caída de la coherencia gamma.
- Tanto en la rata como en el gato la sincronización local (potencia) y entre áreas distantes (coherencia), en la banda gamma de frecuencia, presentan

cambios opuestos durante el sREM, donde a pesar que la potencia aumenta a valores similares a los de la vigilia, las áreas distantes presentan el máximo desacople a estas frecuencias.

Concluimos que: Durante el sREM, a pesar de tener un EEG localmente activado, existe un desacople de la actividad gamma de frecuencias entre áreas de la neocorteza. Por tanto, las interacciones funcionales entre áreas corticales distantes, que son fundamentales funciones para las cognitivas, son diferentes durante la vigilia y el sREM. Dado que este acoplamiento y desacoplamiento de corto y largo alcance entre áreas corticales, en la banda gamma de frecuencias, se observan en rata, gato y también en humanos, consideramos que, este rasgo característico es un y conservado del sREM en los mamíferos.

Índice

1.	ABF	EVIATURAS6		
2. INTRODUCCIÓN8				
	2.1.	EL PROBLEMA DE LA INTEGRACIÓN		
	2.2.	BANDA GAMMA (30-100 HZ) DE FRECUENCIAS DEL EEG		
	2.3.	COHERENCIA GAMMA EN EL EEG		
	2.4.	EL SUEÑO REM Y ENSOÑACIONES: UN MODELO NATURAL DE PSICOSIS		
	2.5.	COHERENCIA GAMMA DURANTE LA VIGILIA Y EL SUEÑO15		
3.	HIP	ÓTESIS DE TRABAJO16		
4.	OBJ	ETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS16		
	4.1.	OBJETIVO GENERAL		
	4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS		
5.	MAT	ERIALES Y MÉTODOS17		
	5.1.	ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN		
	5.2.	PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS17		
	5.3.	SESIONES EXPERIMENTALES DE POLISOMNOGRAFÍA		
	5.4.	ANÁLISIS DE LOS DATOS		
	5.5.	INTERRELACIÓN POTENCIA-COHERENCIA		
	5.6.	ANÁLISIS DE LA INTERRELACIÓN POTENCIA-COHERENCIA EN EL GATO		
6.	ULTADOS CORRESPONDIENTES AL OBJETIVO ESPECÍFICO 121			
	6.1.	REGISTROS CRUDOS Y FILTRADOS (30–48 Y 52–100 HZ) DEL EEG DURANTE LA VIGILIA Y EL SUEÑO REM21		
	6.2.	REDUCCIÓN DE LA COHERENCIA GAMMA DURANTE EL SUEÑO REM		
	6.3.	POTENCIA GAMMA DURANTE LA VIGILIA Y EL SUEÑO		
7.	RES	ULTADOS CORRESPONDIENTES AL OBJETIVO ESPECÍFICO 2		
	7.1. rata	DINÁMICA DE LA POTENCIA, COHERENCIA Y SUS INTERRELACIONES DURANTE EL CICLO DE SUEÑO Y VIGILIA EN LA 29		
	7.2.	DINÁMICA DE LA SINCRONIZACIÓN GAMMA DE CORTO Y LARGO RANGO DURANTE LAS TRANSICIONES DEL SUEÑO		
	REM			
	7.3.	PROMEDIO DE LA POTENCIA, COHERENCIA Y SUS INTERRELACIONES DURANTE EL SUEÑO Y LA VIGILIA		
8.	RES	ULTADOS CORRESPONDIENTES AL OBJETIVO ESPECÍFICO 3		
	8.1. gato	DINÁMICA DE LA POTENCIA, COHERENCIA Y SUS INTERRELACIONES DURANTE EL CICLO DE SUEÑO Y VIGILIA EN EL		
	8.2.	DINÁMICA DE LA SINCRONIZACIÓN GAMMA DE CORTO Y LARGO RANGO DURANTE LAS TRANSICIONES DEL SUEÑO		
	REM EN	I EL GATO		
	8.3.	PROMEDIO DE LA POTENCIA, COHERENCIA Y SUS INTERRELACIONES DURANTE EL SUEÑO Y LA VIGILIA EN EL		
	GATO			
9.	DIS	CUSIÓN41		
	9.1.	POTENCIA Y COHERENCIA GAMMA DURANTE LA VIGILIA		
	9.2.	POTENCIA Y COHERENCIA GAMMA DURANTE EL SUEÑO REM42		
	9.3.	COHERENCIA GAMMA Y LOS SISTEMAS ACTIVADORES		
10). C	ONCLUSIONES		

11.	PERSPECTIVAS	49	
11.1.	ACTIVIDAD GAMMA Y DOPAMINA	49	
11.2.	ACTIVIDAD GAMMA EN UN MODELO FARMACOLÓGICO DE PSICOSIS	49	
11.3.	ARTÍCULO PUBLICADO: INTER-HEMISPHERIC COHERENCE OF NEOCORTICAL GAMMA OSCILLATIONS DURING SL	EEP	
AND V	AND WAKEFULNESS		
11.4.	ARTÍCULO PUBLICADO: COHERENT NEOCORTICAL GAMMA OSCILLATIONS DECREASE DURING REM SLEEP IN T	HE	
RAT		54	
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	55	

1. Abreviaturas

Las abreviaturas se encuentran en orden alfabético.

- 1) ACF: función de autocorrelación, por sus siglas en inglés "autocorrelation function".
- 2) ANOVA: análisis de varianza, por sus siglas en inglés "ANalysis Of VAriance".
- 3) AW: vigilia activa, por sus siglas en ingles "active wakefulness".
- 4) CCF: función de correlación cruzada, por sus siglas en inglés "crosscorrealation function".
- 5) CED: "Cambridge Electronic Design".
- 6) Cer: cerebelo.
- 7) CHEA: Comisión Honoraria de Experimentación Animal.
- 8) Coher: Coherencia
- 9) Coher N: coherencia normalizada.
- 10) csd: densidad espectral cruzada, por sus siglas en ingles "cross spectral density".
- 11) E: estimulo.
- 12) ECoG: electrocorticograma.
- 13) EEG: electroencefalograma.
- 14) EMG: electromiograma.
- 15) EOG: electrooculograma.
- 16) f: frecuencia.
- 17) FR: formación reticulada.
- 18) G1: primer grupo de ratas.
- 19) G2: segundo grupo de ratas.
- 20) G3: tercer grupo de ratas.
- 21) i.p.: intra peritoneal.
- 22) JND: junta nacional de drogas.
- 23) Ket: ketamina.
- 24) LFP: potenciales de campo locales, por sus siglas en inglés "local field potential".
- 25) M2: motora secundaria.
- 26) NGL: electrograma del núcleo geniculado lateral (tálamo visual).
- 27) NMDA: n-metil d-aspartato.
- 28) NPO: núcleo pontis oralis.
- 29) NREM: sueño no REM, también conocido como sueño de ondas lentas.
- 30) Pf: pre frontal.
- 31) PGO: ponto genículo occipitales.
- 32) Pp: parietal posterior.
- 33) PT: potencia total.
- 34) PTN: potencia total normalizada.
- 35) psd: potencia de la densidad espectral, por sus siglas en inglés "power spectral density".

- 36) QW: vigilia tranquila, por sus siglas en inglés "quite wakefulness".
- 37) R²: cuadrado del coeficiente de correlación de Pearson.
- 38) REM: Movimientos oculares rápidos, por sus siglas en inglés "Rapid Eyes Movement".
- 39) REM-off: neuronas que apagan su actividad durante el sueño REM.
- 40) REM-on: neuronas que incrementan su actividad durante el sueño REM.
- 41) S1r: somatosensorial primaria derecha.
- 42) S1I: somatosensorial primaria izquierda.
- 43) s.c.: sub cutáneo.
- 44) SCM: síndrome conductual motor.
- 45) SN: sustancia nigra.
- 46) SPL: nivel de presión de sonido, por sus siglas en inglés "sound presure level".
- 47) sREM: sueño REM.
- 48) t: transiciones.
- 49) UdelaR: Universidad de la República.
- 50) URBE: Unidad de Reactivos para Biomodelos de Experimentación.
- 51) V1r: visual primaria derecha.
- 52) V2: visual secundaria.
- 53) VTA: área tegmental ventral, por sus siglas en inglés "ventral tegmental area".
- 54) W: vigilia, por su sigla en inglés "Wakefulness".
- 55) 6HO-DA: 6 hidroxi dopamina.

2. Introducción

2.1. El problema de la integración

Se puede considerar al cerebro redes neuronales altamente como distribuidas en el que las operaciones se ejecutan de forma secuencial y/o sincrónica careciendo de un único centro de coordinación (Singer, 2007, 2004). Este órgano integra eventos neuronales que se producen en diferentes momentos y lugares del cerebro, en una experiencia unificada. El intento por comprender los mecanismos que se encargan de esta unificación se conoce como "the binding problem" o "el problema de la integración" y es considerado uno de los retos más importantes que la neurociencia cognitiva tiene para resolver (von der Malsburg and Schneider, 1986; Von der Malsburg, 1995).

Uno de los mecanismos de integración sería la sincronización de la actividad neuronal distribuida, visualizado como enganche de fase sobre las oscilaciones generadas por las redes neurales (Singer, 2007, 1999). La primera evidencia experimental que apoya el papel integrador de la sincronía fue observada en de neuronas espacialmente grupos segregadas y registradas simultáneamente, que sincronizaban su actividad sólo cuando eran activadas por un estímulo visual particular. La frecuencia a la que periódicamente se sincronizaban estos pares de neuronas era de aproximadamente 40 Hz (Gray and Singer, 1989; Gray et al., 1989). Este mecanismo fue llamado "binding-by-synchrony" o "integración por sincronía". Formulaciones teóricas de este mecanismo de integración fueron propuestos con anterioridad por Milner (Milner, 1974), Grossberg (Grossberg, 1976) y von der Malsburg (von der Malsburg and Schneider, 1986; Von der Malsburg, 1995).

2.2. Banda gamma (30-100 Hz) de frecuencias del EEG

Fenómenos de sincronización se aprecian en los potenciales de campo locales (LFP por sus siglas en inglés) incluyendo el electroencefalograma (EEG), dado que estos reflejan la actividad sincrónica de grupos neuronales registrados localmente (ver Recuadro 1). El EEG presenta una señal compleja en la cual se pueden distinguir diferentes componentes. Muchos de estos componentes son característicos de la vigilia (W) y el sueño por lo que su presencia o ausencia se utiliza para clasificar el estado comportamental en el que se encuentra el sujeto (ver Recuadro 2).

Recuadro 1.

Estados comportamentales y polisomnografía

En el ser humano y en la mayoría de los mamíferos se pueden distinguir claramente tres estados comportamentales: la vigilia (W), el sueño de ondas lentas o sueño no-REM (sNREM) y el sueño REM (sREM) por sus siglas en inglés "Rapid Eyes Movement". La polisomnografía es la herramienta básica para distinguir estos estados; ésta consiste en el registro simultáneo del EEG, el electromiograma o actividad eléctrica muscular (EMG) y los movimientos oculares. Otros canales accesorios de registros bioeléctricos se utilizan comúnmente tanto en animales de experimentación (Figura RI) como en seres humanos.

Durante la W, existe una interacción óptima con el ambiente que nos permite desarrollar diversos comportamientos necesarios para la supervivencia. En el ser humano, la W se acompaña de conciencia del medio que nos rodea y de ciertos estímulos generados internamente. La W se reconoce por un EEG con ondas de alta frecuencia y baja amplitud, determinado por la "desincronización" de la actividad de las neuronas talámicas y corticales (activación cortical).

En el sueño existe una marcada disminución de la interacción con el ambiente, un aumento del umbral de reacción a estímulos externos, una disminución de la actividad y tono muscular, así como la adopción de una posición adecuada para conservar el calor. De la W se ingresa al sNREM, que en el humano actualmente se reconocen tres fases (numeradas del 1 al 3) relacionadas con la profundidad del estado. El sNREM presenta en forma característica un EEG con ondas de baja frecuencia y alta amplitud, así como husos de sueño (≈ 12 Hz), ambos generados por una actividad sincronizada de neuronas talámicas y corticales (Figuras RI y RII). El sNREM se acompaña, además, de un aumento tónico de la actividad parasimpática que determina cambios característicos de la actividad visceral (disminución de la frecuencia cardiaca, de la presión arterial, etc.). En las etapas más profundas del sNREM no existe o es mínima la actividad cognitiva (ensueños) (Dement and Kleitman, 1957; Hobson, 2009).

En forma periódica, y siempre precedido de sNREM, se ingresa en el estado de sREM. A pesar de que el sueño es profundo, el EEG es similar al de la W (por eso también se denomina sueño paradójico). Esta etapa, donde principalmente ocurren los ensueños, también se acompaña de una atonía muscular evidenciada en el EMG (Figuras RI y RII) y de cambios fásicos de la actividad autonómica.

En animales de experimentación la lesión del tegmento pontino genera la pérdida de la atonía muscular durante el sREM lo cual genera comportamientos motores complejos o "comportamientos oníricos" (Morrison, 1983) posiblemente relacionada a la salida motora correspondiente al contenido del ensueño. La atonía muscular durante este estado está causada por la inhibición de las motoneuronas de la medula espinal (Chase et al., 1989), la vía final común para el movimiento. Comportamientos oníricos relacionados a la narrativa de los ensueños también se observan durante la patología denominada desorden del sREM, donde los pacientes ingresan al sREM sin poder generar la atonía de la musculatura esquelética lo que desencadena que los individuos actúen el contenido de sus ensueños, siendo esto una importante causa de lesiones (Boeve et al., 2007; Schenck et al., 1986).

En las Figuras RI y RII se muestran registros poligráficos durante la W y el sueño, del gato y la rata, respectivamente, modelos animales de la presente Tesis.



Figura RI. Registro polisomnográfico durante la W y el sueño del gato. Durante la W, destaca un EEG activo o desincronizado y un EMG con importante actividad determinada por el tono muscular. Registro durante sueño lento o sNREM, en el cual se observa que el EEG presenta ondas de baja frecuencia y alta amplitud, así como fenómenos electrográficos característicos. Durante el sREM, se destaca un EEG similar a la W, ondas pontogeniculooccipitales (PGO), movimientos oculares rápidos y atonía muscular. EEG: electroencefalograma; EMG: electromiograma; EOG: electrooculograma; NGL: electrograma del núcleo geniculado lateral (tálamo visual). Modificado de Torterolo & Vanini (2010).



Figura RII. Registro polisomnográfico durante la W y el sueño en la rata. Durante la W, destaca un EEG activo con actividad theta (4-9 Hz) junto a señales de alta frecuencia y un EMG con importante actividad determinada por el tono muscular. Por debajo el registro durante sueño lento o sNREM, en el cual se observa que el EEG presenta ondas de baja frecuencia y alta amplitud, así como fenómenos electrográficos característicos. El registro inferior, registro en sREM, destaca un EEG similar a la W, con importante actividad theta principalmente en cortezas posteriores (V2), actividad de alta frecuencia, y atonía muscular. EEG: electroencefalograma; EMG: electromiograma; V2: corteza visual secundaria; M2: motora secundaria. Barras de calibración: 1 segundo y 0.5 mV, respectivamente.

A las oscilaciones del EEG que se observan en el rango de frecuencia de 30 a 100 Hz se le denomina actividad u oscilaciones gamma (Singer, 2007; Uhlhaas et al., 2009). Jasper y Andrews (1938) utilizaron por primera vez el termino ondas gamma para designar a las ondas beta entre los 35 a 45 Hz (Buzsáki and Wang, 2012; Jasper and Andrews, 1938) y los LFP locales se registraron por primera vez en el bulbo olfatorio de erizos por Adrian en 1942 (Adrian, 1942; Rojas-Líbano and Kay, 2008). La actividad gamma se ha observado no sólo en animales, sino también en humanos (Bouyer et al., 1981; Llinás and Ribary, 1993; Maloney et al., 1997; Steriade et al., 1996; Tiitinen et al., 1993). La aplicación de las técnicas de EEG magnetoelectroencefalografía ha y mostrado que un aumento de la actividad o potencia gamma aparece durante los estados comportamentales activos; también se la ha vinculado con una variedad de funciones cognitivas tales como la percepción de estímulos externos, la integración poli-sensorial, la coordinación sensorio-motora. atención. la el mantenimiento de contenidos en la memoria a corto plazo, la formación de memorias asociativas así como en pensamientos e imágenes internamente generadas (Rieder et al., 2011; Rojas-Líbano and Kay, 2008; Singer, 2007, 2004; Uhlhaas et al., 2011, 2009). La génesis de estos ritmos se produciría a nivel cortical y estaría ligada a la inhibición peri-somática GABAérgica, las sinapsis eléctricas (Buhl et al., 2003; Buzsáki and Wang, 2012) y estaría potenciada por el circuito tálamo-cortical que tiende a resonar a estas frecuencia (Llinás and Ribary, 2006).

2.3. Coherencia gamma en el EEG

La coherencia entre dos ondas es una medida de su similitud en contenido de frecuencias. Dos ondas son coherentes a determinada frecuencia cuando tienen una relación de fase constante a esa frecuencia y la relación entre las amplitudes a esa frecuencia se mantiene constante. Se cree que el grado de coherencia gamma del EEG entre dos regiones corticales refleja la fuerza de las interconexiones funcionales (re-entradas) que se producen entre ellas (Bullock et al., 2003; Edelman and Tononi, 2000). Por otra parte, la sincronización gamma entre áreas alejadas de la corteza presentan desfasajes cercanos a cero, que pueden ser menores que las latencias de propagación de estímulos entre dichas áreas, lo que supone que las oscilaciones sincrónicas son una propiedad de las redes

distribuidas que se auto-organizan (Buzsáki and Wang, 2012; Buzsaki, 2006; Singer, 2015; Wang, 2010). La actividad coherente del EEG en la banda gamma de frecuencias también aumenta durante diferentes comportamientos y las diferentes funciones cognitivas tanto en animales como en seres humanos (Bouyer et al., 1981; Bressler et al., 1993; Härle et al., 2004).

Recuadro 2.

Bandas de frecuencia del electroencefalograma

La electroencefalografía (EEG) es una técnica neurofisiológica que se basa en el registro de la actividad bioeléctrica cerebral en condiciones basales de reposo, durante la W y el sueño así como durante diversas maniobras. Se realiza mediante un equipo de electroencefalografía el cual consta de electrodos de registro sobre el cuero cabelludo. También se puede realizar colocando electrodos directamente sobre la corteza cerebral. A este tipo de registros también se le denomina electrograma cortical o electrocorticograma (ECoG). En la presente Tesis a estos registros les denominamos EEG. Las señales bioeléctricas son amplificadas y condicionadas (filtrado analógico de la señal) y actualmente se digitaliza dichas señales con el fin de ser grabadas y analizadas en el computador.

De dichos registros se desprenden patrones de actividad particulares que han servido para la caracterización de los diferentes estados comportamentales. Las ondas lentas (0.1-4 Hz), también denominada ondas delta, son características del sNREM así como del estado de inconsciencia generado por los anestésicos generales tradicionales (Maloney et al., 1997; Mashour, 2006; Torterolo and Vanini, 2010). Durante el sREM así como durante la W con actividad exploratoria, aparece un patrón de actividad denominado theta (4-9 Hz) correspondiente a la actividad oscilatoria del hipocampo la cual se observa desde el neocortex predominantemente en roedores (Buzsaki, 2006). Tanto en gatos como en humanos, este patrón de actividad solo se observa en registros profundos en el hipocampo dado su pequeño tamaño y a que su disposición en capas opuestas generan señales sincrónicas de signo opuesto que se anulan cuando son registradas lejos del hipocampo (Buzsaki, 2006; Penley et al., 2012). La actividad alfa (8-13 Hz) fue uno de los primeros ritmos bioeléctricos corticales caracterizados. Se observa en humanos en cortezas occipitales y es característico de la W con los ojos cerrados. Dicho ritmo no aparece con la misma claridad ni en gatos ni en roedores. La actividad sigma (9-15 Hz) corresponde a los husos de sueño característicos del sNREM los cuales son generados a nivel del tálamo. Entre los 15 y 30 Hz se encuentra la banda beta de frecuencia. Entre los 30 y 100 Hz se encuentra la banda gamma de frecuencia (Uhlhaas et al., 2009) la cuál tratamos en esta Tesis. La actividad mayor a los 100 Hz y sus relaciones con el ciclo sueño-vigilia y las funciones cognitivas están siendo estudiadas en la actualidad. A estos patrones electrográficos se los ha denominado de diferentes formas: "High gamma", "Épsilon" o "High Frequency Oscillation" (Scheffzuk et al., 2011; Tort et al., 2013, 2010). Por detalles de las bandas de frecuencias características del EEG ver Figura RIII.



Figura RIII. Promedios de la potencia espectral durante la W y el sueño en la rata. Se grafica el promedio de 12 ventanas de 100 s de duración de la potencia espectral en función de la frecuencia (1-200 Hz), de una rata, durante la W (azul), el sNREM (verde) y el sREM (rojo), con una resolución de frecuencia de 0,5 Hz. La potencia corresponde al registro de la corteza somatosensorial primaria (S1). Alternando el color de fondos de la gráfica se delimitan las diferentes bandas de frecuencia. Delta (1-4 Hz); Theta (4-9 Hz); Sigma (9-15 Hz); Beta (15-30 Hz); Gamma (30-100 Hz); Épsilon (100-200 Hz).

A su vez, la coherencia gamma entre diferentes áreas del cerebro ha sido vista como un correlato neural de la conciencia (Joliot et al., 1994; Llinás et al., 1998) y es un factor crítico en la percepción (Melloni et al., 2007; Rodriguez et al., 1999). En este sentido, la coherencia en la banda gamma de frecuencia se pierde durante la narcosis (inconsciencia) inducida por los anestésicos generales como los barbitúricos, isofluorano, etc., (John, 2002; Mashour, 2006). Esta también se altera seriamente durante varios trastornos psiquiátricos que afectan la cognición como la esquizofrenia (Uhlhaas and Singer, 2010, 2006; Uhlhaas et al., 2006). Por otra parte, el uso de antagonistas NMDA, producen importantes cambios en la actividad gamma del EEG (Lazarewicz et al., 2010; Pal et al., 2015), y por sus efectos conductuales, es considerado un modelo farmacológico válido para el estudio de las bases neurobiológicas de las enfermedades del espectro psicótico (Javitt and Zukin, 1991; Moghaddam and Jackson, 2003; Rung et al., 2005).

2.4. El sueño REM y ensoñaciones: un modelo natural de psicosis

La actividad cognitiva no sólo ocurre durante la W, sino también durante el sREM donde principalmente se producen los ensueños o ensoñaciones (Recuadro II). A estos se les considera un tipo especial de actividad cognitiva o proto-conciencia 2009). (Hobson, Los ensueños se caracterizan por su riqueza y claridad discontinuidades sensorial. е incongruencias en el tiempo, en el espacio y en los personajes. También existe una distorsión de la realidad, se violan las leyes físicas y esto se acepta pasivamente. En estos hay una 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), existe la falta de conciencia de estar soñando y la memoria de dichos eventos se vuelve lábil (Hobson, 2009; Nir and Tononi, 2010; Rechtschaffen, 1978).

Existen similitudes cualitativas y cuantitativas entre algunas de las características del sREM y el estado mental de la psicosis (Gottesmann and Gottesman, 2007; Gottesmann, 2006; Scarone et al., 2008). Actualmente, el sREM es considerado como un modelo natural de psicosis (Benson and Zarcone, 1985; Hobson, 1997; Scarone et al., 2008). Las alucinaciones de las enfermedades dentro del espectro psicótico tienen características similares a las experiencias oníricas del sREM. A su vez, en ambas condiciones disminuye la actividad de la corteza prefrontal junto a importantes cambios en la actividad de la vía dopaminérgica mesolímbica (Braun et al., 1997; Corsi-Cabrera et al., 2003; Gottesmann and Gottesman, 2007; Gottesmann, 2006). En contraste, durante el sueño de ondas lentas o sueño no-REM (sNREM) hay ausencia o fuerte reducción en las funciones cognitivas (Hobson, 2009).

2.5. Coherencia gamma durante la vigilia y el sueño

Recientemente estudiamos la coherencia gamma entre diferentes áreas corticales (inter e intra-hemisféricas) durante el ciclo sueño-vigilia en el gato (Castro et al., 2014c, 2013). Estos trabajos muestran que, la coherencia y potencia gamma es máxima durante la W alerta (AW) y decrece progresivamente desde su paso a la W tranguila (QW) hasta llegar al sNREM. En estos trabajos demostramos que los valores de coherencia gamma entre áreas corticales distantes son mínimos durante el sREM. Por otra parte observamos que la potencia gamma (índice de sincronización local) 15

aumentaba en cada corteza registrada durante el sREM comparados con el sNREM y llegando a valores similares a los de vigilia tranquila (QW).

Hasta el momento solo hemos estudiado como cambia la coherencia gamma durante el ciclo de sueño-W en el gato. No se conoce como son las variaciones temporales de sincronización gamma local y entre áreas distantes de la neocorteza ni como estas se relacionan y modifican durante el ciclo sueño-W. Por otra parte no es claro si los cambios en la actividad gamma durante el ciclo sueño-W, observados en el gato, se encuentren conservados en otras especies de mamíferos. Es por esto que el presente trabajo busca develar las incógnitas recién planteadas.

3. Hipótesis de trabajo

- La sincronización gamma entre áreas distantes es máxima durante la W, disminuye durante el sNREM y es mínima durante el sREM.
- La sincronización local (potencia) y entre áreas distantes (coherencia) disminuyen juntas durante el pasaje de la W al sNREM y que el sentido de dicho cambio se hace opuesto durante el sREM.

 Estas características diferencian al sREM del resto de los estados comportamentales y se encuentran conservadas en los mamíferos.

4. Objetivos generales y específicos.

4.1. Objetivo general

Determinar cómo se modifican los ritmos eléctricos cerebrales durante el ciclo sueño-W y su relación con las funciones cognitivas.

4.2. Objetivos específicos

- Investigar, en la rata, la coherencia para la banda gamma de frecuencia del EEG entre áreas cerebrales distantes durante el ciclo sueño-W.
- En la misma especie, analizar en conjunto la potencia, coherencia y sus diferencias como índices de sincronización local y entre áreas distantes de la noecorteza, respectivamente.
- En el gato, analizar en conjunto la potencia, coherencia y sus diferencias como índices de sincronización local y entre áreas distantes de la neocorteza respectivamente, con el fin de entender si los fenómenos observados son particulares de cada especie o si se 16

encuentran conservados en estos dos órdenes de mamíferos (Carnívora y Rodentia).

5. Materiales y Métodos

5.1. Animales de experimentación

Para cumplir con los Objetivos específicos 1 y 2, fueron utilizadas en total 12 ratas y para cumplir con el objetivo específico 3 se re analizaron los registros de 2 gatos obtenidos previamente por nuestro grupo. Los animales (ratas) fueron obtenidos de la Unidad de Reactivos para Biomodelos de Experimentación (URBE). Los animales permanecieron en jaulas individuales, con el ciclo luz-oscuridad y temperatura controladas. Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la guía para el uso y cuidado de animales de laboratorio (8va edición, National Academy Press, Washington, DC 2010). A su vez, los estudios se realizaron de acuerdo a la lev nacional de experimentación animal Nº 18.611. ΕI protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación animal (CHEA), expediente 071140-001931-Se realizó el mayor esfuerzo para 12. minimizar número de animales el

empleados, y se adoptaron medidas para evitarles dolor, incomodidad o estrés.

5.2. Procedimientos quirúrgicos

Los procedimientos quirúrgicos son similares a los utilizados previamente por nuestro grupo (Benedetto et al., 2013; Lagos et al., 2009).

Los animales fueron implantados crónicamente con electrodos para monitorizar los estados de W y sueño. La anestesia fue inducida con una mezcla de ketamina-xilazina (90 mg / kg; 5 mg / kg i.p., respectivamente). La cabeza del animal fue colocada en el marco estereotáctico y se expuso el cráneo. Con el fin de registrar el EEG, los electrodos (tornillos de acero inoxidable, de 1mm diámetro) se colocaron en la bóveda craneal, sobre las cortezas parietal, occipital y el cerebelo (Figura 1). Un par de electrodos se insertaron en los músculos de la nuca a fin de registrar la actividad eléctrica muscular, o EMG. Los electrodos se soldaron a un conector que se fijó al cráneo con acrílico dental. Finalizada la cirugía, se administró un analgésico c/24 hs por 48 hs (ketoprofeno, 1mg/Kg s.c.). Los márgenes de la incisión fueron mantenidos limpios y se le aplicó antibiótico tópico diariamente.

Una vez recuperados de la cirugía, los animales fueron adaptados a las condiciones experimentales, por un período 17

de no menos de 1 semana dependiendo del proceso de cada animal en particular. Tanto la adaptación como las sesiones de registros se realizaron bajo un ciclo de luzoscuridad 12-12, con temperatura controlada (21-25 °C) y agua y comida *ad libitum*.



Figura 1. Posición de los electrodos de registro. La figura presenta un esquema de la posición de los electrodos de registro en la superficie de la corteza somato-sensorial primaria y la corteza visual primaria de la rata (Paxinos and Watson, 1982). Los electrodos activos se refieren a un electrodo común o indiferente posicionado sobre el cerebelo (Cer). G1-G3, son grupos de animales con diferentes ubicaciones de electrodos (cuatro animales por grupo). G1 corresponde al grupo con combinaciones de cortezas diferentes del mismo hemisferio (intra-hemisférica). G2 corresponde al grupo con combinaciones de la misma corteza en cada hemisferio cerebral (inter-hemisférica homotópica). G3 corresponde al grupo con combinaciones de cortezas diferentes de diferentes de diferentes hemisferios cerebrales (inter-hemisférica heterotópica). S1, corteza somato-sensorial primaria; V1, corteza visual primaria; r, derecha; l, izquierda.

5.3. Sesiones experimentales de polisomnografía

Se realizaron registros poligráficos, de 6 horas de duración, registrando la actividad simultánea de áreas corticales con electrodos monopolares, mientras que, el EMG fue realizado en forma bipolar. Se utilizó un electrodo indiferente (inactivo) común a todas las cortezas registradas simultáneamente, ya que un electrodo indiferente inactivo es crítico para un correcto análisis de coherencia (Bullock, 1997; Bullock et al., 1995; Cantero et al., 2000; Nunez et al., 1997). Para obtener una serie de datos completa, cada animal fue registrado diariamente durante 2 semanas. Los registros se realizaron entre las 12 y 18 horas durante la fase de luz. Las señales bioeléctricas fueron amplificadas (x1000), y filtradas (0.1-200 Hz), digitalizadas (512 Hz, 2¹⁶ bits) y almacenadas en una PC utilizando el software Spike 2 de "Cambridge Electronic Design" (CED). Los registros fueron realizados en condiciones de libre movimiento dentro de una caja Faraday que también es atenuadora de sonidos. Los datos fueron obtenidos en W, sNREM y sREM.

En las ratas se practicó eutanasia luego de cada serie experimental mediante sobredosis de pentobarbital (50 mg/Kg).

5.4. Análisis de los datos

Los estados de W, sNREM y sREM fueron determinados en épocas de 10 segundos de duración (Benedetto et al., 2013). En la estadificación de la rata el sNREM se divide en dos etapas, sueño lento 1 y 2 (SL1 y SL2 respectivamente) determinadas por la profundidad de las ondas lentas del sNREM y la presencia de husos de sueño en SL2.

Para analizar las señales electrográficas se utilizaron ventanas de registro independientes (distintos momentos del registro y distintos registros) para cada estado comportamental. Los registros fueron analizados mediante los siguientes algoritmos matemáticos.

Coherencia gamma. Para analizar la media de la coherencia entre pares de canales del EEG se examinaron 12 periodos de 100 segundos libres de artefactos para cada estado comportamental (Castro et al., 2014b, 2013). En cada período de tiempo fue analizada la coherencia utilizando el algoritmo matemático "Magnitude Squared Coherence" (utilizado previamente en (Castro et al., 2014b, 2013)). Calculamos la coherencia por medio de la transformación rápida de Fourier. Desde el punto de vista matemático la coherencia se obtiene de la densidad espectral cruzada (cross spectral density o csd) entre las dos ondas normalizadas por el producto de la potencia de la densidad espectral (power spectral density o psd) de cada onda, de modo que la coherencia entre dos ondas a y b, a una frecuencia determinada (f) se obtiene de la siguiente manera:

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

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

fueron transformados a valores z' por medio de la transformación Z de Fisher. Ventanas de 10 segundos también fueron utilizadas para el análisis dinámico de la coherencia gamma.

Potencia gamma. La potencia gamma, utilizada como índice de actividad local, es el cuadrado de la amplitud del rango gamma del espectro de la onda. Se analizó en ventanas de 100 segundos el valor absoluto así como el normalizado al máximo valor para eliminar las diferencias posibles en las características resistivas de los electrodos. Ventanas de 10 segundos también fueron utilizadas para el análisis dinámico de la potencia gamma.

Correlaciones. Se seleccionaron diferentes registros los cuales fueron filtrados para la banda gamma de frecuencia (utilizando filtros digitales de tipo "finite impulse response" del programa Spike 2). Posteriormente. en ventanas de 20 segundos, se analizó la amplitud de los pares de registros simultáneos filtrados, por medio de la correlación de Pearson. La estructura de las ondas y la correlación entre ellas fueron analizadas en ventanas de 100 segundos mediante las funciones de autocorrelación y correlación cruzada, respectivamente.

La significancia estadística entre los distintos estados conductuales o entre las

diferentes combinaciones de cortezas fue evaluada utilizando las pruebas de ANOVA de una y dos vía y "post hoc" de Tamhane; el criterio para descartar la hipótesis nula fue de P < 0.05.

5.5. Diferencia potencia-coherencia.

Con el fin de analizar la diferencia entre la actividad gamma registrada en un (potencia como electrodo índice de sincronización de la actividad neuronal registrada localmente) y la coherencia entre pares de electrodos (como índice de correlación entre las actividades de poblaciones neuronales de cortezas distantes) en dicha banda de frecuencia, nos dispusimos a realizar el siguiente análisis.

Se calculó la diferencia entre, el promedio de la potencia gamma normalizada entre los dos canales, menos la coherencia gamma normalizada de los dos canales en cuestión, de la siguiente manera: ((PTN del canal 1 + PTN del canal 2) / 2) -(la coherencia-z' entre los canales 1 y 2 normalizada). PTN es la potencia total normalizada para la banda gamma de frecuencia. La potencia total (PT) es la suma de todas las ventanas de potencia (ventanas de 0.5 Hz) para la banda gamma de frecuencias. La normalización se realizó dividiendo cada valor por el máximo valor registrado. Se analizó dicha diferencia potencia-coherencia en el tiempo, así como en ventanas independientes de análisis en 4 ratas.

5.6. Análisis de la diferencia potenciacoherencia en el gato

Para cumplir el Objetivo específico 3, se re-analizaron los registros de 2 gatos previamente utilizados en trabajos de nuestro grupo (ver Anexo 12.1. y (Castro et al., 2013)). Los materiales, procedimientos y registros analizados son casi idénticos a los realizados en ratas, descriptos en las secciones anteriores (por detalles de procedimientos en gato ver sección Anexo 12.1.). En estos animales la vigilia alerta (AW o "active wakefulness") fue inducida por estímulos sonoros de 300 segundos de duración, aproximadamente 30 minutos después del inicio del registro. El estímulo sonoro consiste en "clics" (0.1 ms de duración) de 60 a 100 dB SPL ("sound pressure level") en intensidad con una frecuencia de presentación variable (1 a 500 Hz) modificada de forma al azar por el operador para evitar la habituación (Castro et al., 2014c, 2013). Realizamos análisis de potencia, coherencia y su diferencia en registros dinámicos (en el tiempo) así como en ventanas independientes en 2 gatos.

Para dichos análisis utilizamos las señales de dos cortezas asociativas como la pre-frontal (Pf) y la parietal posterior (Pp) intra hemisféricas (Figura 2), mientras que para ratas utilizamos pares de cortezas sensoriales primarias como visual primaria (V1) y somatosensorial primaria (S1).



Figura 2. Posición de los electrodos de registro. La figura presenta un esquema de la posición de los electrodos de registro en la superficie de la corteza pre frontal (Pf) y parietal posterior (Pp) del gato. Los electrodos activos se refieren a un electrodo común o indiferente posicionado sobre el seno frontal (SF).

6. Resultados correspondientes al Objetivo Específico 1

6.1. Registros crudos y filtrados (30–48 y 52–100 Hz) del EEG durante la vigilia y el sueño REM

Durante el ciclo de sueño y W el EEG fluctúa entre un patrón de actividad desincronizado, en presencia de un claro ritmo theta (4-9 Hz) durante la W y el sREM y un patrón sincronizado (llamado así por su sincronización lenta entre 0.1 y 4 Hz) de actividad durante el sNREM (ver Recuadro 1). A pesar que la actividad del EEG es similar durante la W y el sREM existen algunas diferencias sutiles. En las Figuras 3 y 4 se muestran registros representativos del EEG durante la W y el sREM, respectivamente. Se pueden observar oscilaciones entre los 30-48 Hz en los registros crudos durante la W (Figura 3); estos fenómenos electroencefalográficos son más difíciles de ver en los registros crudos durante el sREM (Figura 4).

Al filtrar los registros crudos (filtrado pasa banda) entre los 30-48 y 52-100 Hz las oscilaciones gamma se observan con mayor claridad. Durante la W es común observar que las oscilaciones gamma entre 30-48 Hz exhiben un patrón de actividad en brotes con forma de husos (ver ejemplo en Figura 3, flecha); por otro lado las oscilaciones entre los 52-100 Hz son más irregulares. Las funciones de autocorrelación muestran oscilaciones periódicas de la actividad gamma (30-48 y 52-100 Hz) tanto en la W como durante el sREM (Figuras 3B y 4B, ACF).

En la Figura 3 también se ilustra un ejemplo representativo de acople entre las señales filtradas del EEG registradas simultáneamente en diferentes regiones de la corteza del mismo hemisferio durante la W. El acoplamiento es evidente cuando la amplitud de las señales entre pares de registros del EEG se correlaciona (Figura 3C); la función de correlación cruzada también muestra que estas señales periódicas se encuentran fuertemente acopladas (Figura 3B, CCF). Durante el sREM, este acoplamiento entre señales intra-hemisféricas del EEG se encuentra reducido, lo cual también se observa en los registros filtrados. la correlación de amplitudes y los histogramas de correlación cruzada mostrados en la Figura 4.



Figura. 3. Oscilaciones gamma durante la W. A. Registros crudos y filtrados (30 a 48 y de 52 a 100 Hz) simultáneos de la corteza somatosensorial primaria derecha (S1r) y visual primaria derecha (V1r) durante la W. Se pueden observar las oscilaciones gamma en los registros crudos y quedan más evidentes en los registros filtrados. La flecha señala un huso de actividad gamma. Barras de calibración: 200 ms y 200 μ V para los registros crudos y 100 μ V para los filtrados. B. Función de autocorrelación de onda (ACF) y función de correlación cruzada (CCF) para los registros (30 a 48 Hz y 52 a 100 Hz) de un período de 100 s del registro simultaneo del EEG de S1r y V1r durante la W. La ACF de ambos canales se superpone. C. Regresión lineal entre las amplitudes de S1r y V1R realizada entre los registros filtrados (30-48 y 52-100 Hz) de W durante 20 s. Se muestran los R² y ecuaciones de la recta.



Figura 4. Oscilaciones gamma durante el sREM. A. Registros crudos y filtrados (30 a 48 y de 52 a 100 Hz) de somatosensorial primaria derecha (S1r) y visual primaria derecha (V1r) durante el sREM. La amplitud y la duración de las oscilaciones gamma disminuyeron en comparación con el estado de W (ver Figura 2). Barras de calibración: 200 ms y 200 μV para registros crudos y 100 μV para los filtrados. B. Funciones de correlación cruzada (CCF) y autocorrelación (ACF) de 30-48 Hz y 52 a 100 Hz de periodos de 100 s de registros del EEG se muestran durante el sREM. Las ACF de ambos canales se superponen. (C) Regresión lineal entre las amplitudes de S1r y V1r se analizaron a partir de los registros filtrados (30-48 y 52-100 Hz) durante 20 s de sREM. Se muestran el R² y la ecuación de la recta.

6.2. Reducción de la coherencia gamma durante el sueño REM

Sumado al hecho de que el acople entre cortezas distantes es mínimo durante el sREM analizado mediante métodos de filtrado y correlación de señales, utilizamos el algoritmo "magnitude-squared coherence" como una metodología más precisa de análisis del acople de la actividad gamma entre pares de señales del EEG registradas simultáneamente durante la W y el sueño.

Como primer paso, mediante el ANOVA de dos vías analizamos la coherencia-z' utilizando a los estados comportamentales, y las derivaciones intra o inter-hemisféricas como factores. Este análisis reveló un efecto significativo del estado comportamental (30-48 Hz,F_{2,423}= 47.2, p < 0.0001; 52–100 Hz, F_{2.423}= 232.2, p < 0.0001), combinación de cortezas (30– 48 Hz, $F_{2,423}$ = 335.5, p < 0.0001; 52–100 $Hz, F_{2.423} = 242.4, p < 0.0001)$ e interacciones entre ambas (30–48 Hz, $F_{4.423}$ = 8.5,p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{4.423}$ = 4.5, p = 0.001). El análisis "post hoc" de Tamhane muestra que, la coherencia-z' durante el sREM fue menor que en el resto de los estados comportamentales (p < 0.001). Además, sin cuenta los estados tener en comportamentales, la coherencia-z' 30-48 Hz inter-hemisférica heterotópica fue menor comparada con los otros pares de cortezas (p < 0.001). Todas las combinaciones (pares de cortezas y estados

comportamentales) tuvieron diferencias estadísticamente significativas (p< 0.001) para la coherencia-z' entre los 52-100 Hz.

Como segundo paso, analizamos la coherencia-z' para cada combinación de electrodos durante el ciclo sueño y W usando ANOVA de una vía. Existen diferencias significativas para la combinación intra-hemiférico entre S1 y V1 (30–48 Hz, F_{2,141}= 27.8, p < 0.0001; 52–100 $Hz,F_{2.141} = 94.3$, p < 0.0001); la interhemisférico homotópica S1-S1 (30-48 Hz, $F_{2.141}$ = 8.5, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{2.141}$ = 58.9,p < 0.0001) y las inter-hemisférico heterotópico S1 izquierda-V1 derecha (30-48 Hz,F_{2.141}= 32.5, p < 0.0001; 52–100 Hz, F_{2,141}= 95.6, p < 0.0001).

En la Figura 5 se observa que para todas las combinaciones de electrodos analizadas, los mínimos valores de coherencia-z' para ambas bandas de frecuencia, 30-48 y 52-100 Hz, fueron durante el sREM. Para la banda de los 30-48 Hz. en la combinación intra-hemisférica. los máximos valores fueron durante la W. En las combinaciones inter-hemisféricas el máximo valor de coherencia-z' fue durante el sNREM. La coherencia-z' para la banda de 52-100 Hz fue siempre significativamente mayor durante la W para las combinaciones intra como inter-hemisféricas de electrodos (Figura 5). En la Figura 5B se resumen esquemáticamente los resultados de la



Figura 5. Coherencia-z' gamma durante la W y el sueño. A. Media \pm error de la coherencia-z' (30-48 y 52-100 Hz) de combinaciones de electrodos intra-hemisférica (G1, S1r-V1r), inter-hemisférica homotópica (G2, S1I-S1r) e interhemisférica heterotópico (G3, S1r-V1I). Los datos se obtuvieron a partir de 4 ratas por grupo; 12 ventanas de 100 s por rata por cada estado conductual. La significación estadística: + p <0,05 y * p <0,0001; ANOVA de una vía y "post hoc" de Tamhane. B. Esquema del cerebro donde se resume la coherencia-z' de la banda gamma del EEG. Las líneas representan las combinaciones y el color representa el nivel de coherencia-z'.

Para un análisis más detallado, analizamos la coherencia-z de las transiciones (t) de entrada y salida del sREM (Figura 6). El inicio del sREM fue acompañado por un descenso en la coherencia-z' gamma el cual se mantuvo en bajos niveles durante dicho

estado (Figura 6A). En contraste, durante las transiciones de salida del sREM (sNREM o micro-despertares seguidos de sNREM) la coherencia-z' se incrementa (Figura 6B).

Un ejemplo de evolución dinámica de la coherencia-z' gamma (30-48 y 52-100

Hz) durante los distintos estados comportamentales se muestra en la Figura
7 para la combinación intra-hemisférica de electrodos. El máximo valor de coherenciaz' fue durante la W y los valores mínimos ocurren durante el sREM.



Figura 6. Coherencia-z' durante las transiciones del sREM. A. Los gráficos representan la media ± error estándar de la coherencia-z' (30-48 y 52-100 Hz) de 25 transiciones de una rata correspondiente al grupo G1 (S1r-V1r, coherencia intra-hemisférica). (t) indica el inicio del sREM. B. Despertar del sREM. Los gráficos muestran la media ± error estándar de la coherencia-z' (30-48 y 52-100 Hz) de 25 transiciones de una rata del grupo G1 (S1r-V1r, coherencia intra-hemisférica). (t) indica el final de los episodios de sREM. sNREM se simbolizan en verde; sREM en rojo. Los estados que siguieron al sREM se indican en negro (estas épocas fueron principalmente micro-despertares seguidos de sNREM).



Figura 7. Dinámica de la coherencia gamma durante la W y el sueño. (A) Espectrograma (0,1 a 100 Hz) correspondientes a los registros de las áreas visual primaria (V1r) y somatosensorial primaria (S1r). Debajo se muestra el hipnograma correspondiente. Durante el sREM y W se observa la actividad theta (4-9 Hz) en ambos espectrogramas. Durante la W también se puede observar la actividad gamma. Durante el sNREM, la actividad delta (0,5-4 Hz) es más prominente y hay episodios intermitentes de actividad sigma (9-15 Hz), que corresponden a la presencia de husos de sueño. (B) La coherencia-z' para ambas bandas gamma (30-48 y 52-100 Hz), se analizó en épocas de 10 s. Los valores máximos de coherencia-z' ocurrieron durante W; la misma disminuyó a un nivel intermedio durante el sNREM y los valores mínimos fueron durante el sREM (segmentos en rojo). SL1: fase uno del sueño lento y SL2: fase 2 del sueño lento o sNREM. Por detalles de patrones característicos de actividad del EEG durante la W y el sueño ver Recuadro 2. La calibración relativa de ambos espectrogramas utiliza los colores tendientes al rojo como mayores valores y menores valores las tendencias al azul y el negro.

6.3. Potencia gamma durante la vigilia y el sueño La potencia gamma fue significativamente diferente entre los

diferentes estados comportamentales para la corteza S1 (30–48 Hz, $F_{2,105}$ = 7.9, p = 0.001; 52–100 Hz, $F_{2,105}$ = 49.3,p < 0.0001) y V1 (30–48 Hz, $F_{2,105}$ = 6.1, p = 0.003; 52– 100 Hz, $F_{2,105}$ = 45.1, p < 0.0001). La Figura 8 muestra que la potencia gamma es significativamente mayor durante la W que durante el sREM para los 52-100 Hz en las cortezas S1 y V1, y para los 30-48 Hz en S1. Sin embargo, en contraste a lo que ocurre con la coherencia-z', los valores mínimos de potencia gamma ocurren durante el sNREM. coherencia gamma entre áreas corticales son mínimos durante el sREM. Por otra parte, observamos que la potencia gamma (índice de sincronización local) aumenta en cada corteza registrada durante el sREM, en la rata (Figura 8), comparados con el sNREM y llegando a valores similares a los de la W.



Figura 8. Potencia gamma durante la vigilia y el sueño. Potencia de la banda gamma del EEG registrada de 3 ratas para la combinación intrahemisféricas de cortezas S1r y V1r de grupo G1 (ver Figura 1) durante la W, sNREM y el sREM. Los valores representan la media \pm error estándar. La significación estadística: + P <0.05 y * p <0.0001, ANOVA de una vía y "post hoc" de Tamhane.

En suma, los resultados hasta el momento muestran que los valores de

7. Resultados correspondientes al Objetivo Específico 2

En función de los resultados hasta aquí obtenidos realizamos un nuevo trabajo donde analizamos en detalle la potencia, coherencia gamma y sus interrelaciones (como índices de sincronización de corto y largo rango respectivamente) durante el ciclo de sueño y W.

7.1. Dinámica de la potencia, coherencia y sus interrelaciones durante el ciclo de sueño y vigilia en la rata

Los cambios dinámicos de potencia total normalizada (PTN) fueron graficados durante el ciclo de sueño-W para ambas bandas gamma de frecuencias y ambas cortezas simultáneamente registradas (Figura 9B). La PTN de las bandas 30-48 y 52-100 Hz presenta una dinámica de cambio similar en las cortezas S1 y V1. La máxima PTN se registra durante la W y rápidamente decrece en la transición al 29 sNREM. Aquí es cuando se observan los mínimos valores de potencia gamma 30-48 y 52-100 Hz en S1 y V1. En la transición al sREM hay un claro incremento en la PTN de la banda 52-100 Hz pero este incremento no se observa claramente en la representación dinámica de la banda gamma de 30-48 Hz (Figura 9B).

También analizamos los cambios dinámicos de la coherencia-z' en cada combinación de electrodos. Dichos resultados fueron normalizados al máximo valor y graficados durante el ciclo de W y sueño (Figura 9C). En la rata la coherenciaz' entre S1 y V1 en ambas bandas de frecuencia es máxima durante la W y se reduce durante el sNREM. Aquí el ingreso al sREM se da junto a una caída en la coherencia entre estas cortezas la cual se recupera al salir de dicho estado (ver Figura 7 y 9C).

La sincronización local (potencia) y la sincronización de largo rango o entre áreas distantes de la neocorteza (coherencia) parecen compartir una dinámica de cambio similar durante las transiciones entre la W y el sNREM. Por otra parte durante la transición de sNREM a sREM esta sincronización local y de largo rango presenta una dinámica de cambio totalmente diferente (Figura 9B y C).

Para analizar cómo es la interrelación entre la potencia y la coherencia analizamos la diferencia entre ambas variables (ver sección 5.5.). Se observó que durante la W estos valores se situaron cercanos a cero, esto era esperable dado que tanto la coherencia como la potencia presentan los máximos valores durante la W comparados con el resto de los estados, y la normalización se efectuó dividiendo a cada valor entre el máximo valor registrado. Por el contrario, durante el sNREM estos valores se hacen negativos y durante la transición al sREM estos valores rápidamente se invierten a valores positivos. Estos cambios parecen ser similares en las dos bandas de actividad gamma analizadas.



Figura 9. Dinámica de la potencia, coherencia y su interrelación durante la W y el sueño, en la rata. A. Se muestran los espectrogramas (0,1 a 100 Hz) de las cortezas V1r, S1r y por debajo su hipnograma correspondiente. Durante el sREM y W la actividad theta (4-9 Hz) en los espectrogramas se puede observar fácilmente. La actividad gamma es más grande durante W. Durante el sNREM, la actividad delta (0,1-4 Hz) es más prominente y hay episodios intermitentes de actividad sigma (9-15 Hz), que corresponden a la presencia de husos de sueño. B. La potencia total normalizada (PTN), C. la coherencia-z' normalizada y D. su diferencia para ambas bandas gamma (30-48 y 52-98 Hz) se analizó en épocas de 10 s. Los valores máximos de potencia y la coherencia se produjeron durante W. La coherencia de 52 a 98 Hz se incrementa durante el sREM. D. En el gráfico de la interrelación potencia-coherencia se aprecia capaz de diferenciar el sREM del resto de los estados comportamentales llevándolo a valores positivos. La calibración relativa de ambos espectrogramas utiliza los colores tendientes al rojo como mayores valores y menores valores las tendencias al azul y el negro.

7.2. Dinámica de la sincronización gamma de corto y largo rango durante las transiciones del sueño REM

Para un análisis más profundo de las transiciones (t) de entrada y salida del sREM, analizamos la media ± el error de la potencia y la coherencia-z' entre las transiciones en épocas de 10 segundos (Figura 10). El comienzo del sREM está acompañado por un descenso de la coherencia-z' el cual es mantenido a bajos niveles durante todo este estado (trazados superiores de la Figura 10A) Durante la transición de salida la coherencia-z' se incrementa hasta valores cercanos a los registrados previamente (Figura 10B).

En contraste, durante la entrada al sREM la sincronización local (potencia) se incrementa y disminuye nuevamente

cuando el sREM finaliza. En muchas ocasiones la salida del sREM transcurre con un momentáneo incremento en la potencia gamma que rápidamente decrece hasta valores menores a los del sREM. Es importante aclarar que durante la salida del sREM ocurren muchos micro-despertares seguidos, en estos casos, de sNREM.

Los resultados mostrados hasta el momento sugieren que durante las transiciones del sREM la sincronización local y entre áreas distantes de la corteza, en ambas bandas de frecuencia gamma, transita con cambios totalmente opuestos.



Figura 10. Potencia total (PT) y coherencia-z' durante las transiciones del sREM en la rata. A. Los gráficos representan la media ± error estándar del PT y coherencia-z' (30-48 y 52-98 Hz) de 30 transiciones de una derivación de rata (somestésica primaria-visual primaria del mismo hemisferio). El cambio de color (verde-rojo) indica el inicio del sREM. B. El despertar del sREM. Los gráficos muestran la media PT o coherencia-z' ± error estándar (para 30-48 y 52-98 Hz) de 30 transiciones en la misma derivación. El cambio de color (rojo-negro) indica el final de los episodios de sREM. Episodios sNREM se simbolizan en verde; Episodios sREM en rojo. Los estados que siguieron los episodios de sREM se indican en negro (estas épocas fueron principalmente micro-despertares seguidos de sNREM, pero transiciones directas al sNREM también fueron observadas. S1, somatosensorial primaria. V1, visual primaria.

7.3. Promedio de la potencia, coherencia y sus interrelaciones durante el sueño y la vigilia

En concordancia con el hecho que la sincronización local (potencia) y la sincronización entre cortezas distantes (coherencia) se comportan de manera diferente durante la transición de estados particularmente durante el sREM, analizamos el promedio de la potencia total (PT), la coherencia-z' y sus interrelaciones independientes 100 ventanas de en

segundos de duración para un grupo de 4 ratas (G1).

En ratas la PT mostró diferencias significativas entre estados para las cortezas S1 (30–48 Hz, $F_{2,105}$ = 9.3, p < 0.000; 52–100 Hz, $F_{2,105}$ = 54.2,p < 0.0001) y V1 (30–48 Hz, $F_{2,105}$ = 8.7, p < 0.000; 52– 100 Hz, $F_{2,105}$ = 46.2, p < 0.0001). La Figura 11 (trazados superiores) muestra que la PT gamma presenta mayor valor durante la W pero esta no es significativamente diferente de sREM para la banda gamma 30-48 Hz en las cortezas S1 y V1. La PT gamma es mínima durante el sNREM y es significativamente diferente al resto de los estados comportamentales en S1 y V1. Los resultados de PT son similares a los registrados para el promedio de la potencia gamma intra-hemisférica en la sección 6.3.

Las coherencias-z' fueron significativamente diferentes para las combinaciones intra-hemisféricas entre S1 y V1 (30-48 Hz, $F_{2,105} = 85.2$, p <0.001; 52 a 100 Hz, $F_{2,105} = 225.8$, p <0.001). Durante la W la coherencia 30-48 y 52-100 Hz fue significativamente mayor que el resto de los estados conductuales (p <0.001). Por otra parte los valores mínimos fueron registrados durante el sREM comparados con el resto de los estados (p <0.001; ver Figura 11B). Estos resultados también son similares a los registrados en la sección 6.2.

Se calcularon las medias de la diferencia potencias-coherencias de la forma descripta en la sección 5.5. En ratas las diferencias potencia-coherencia también fueron significativas para ambas bandas de actividad gamma (30-48 Hz, $F_{2,105} = 40.927$, p <0.001; 52 a 100 Hz, $F_{2,105} = 48.463$, p <0.001). Durante W estos valores se sitúan cercanos a cero, negativo durante sNREM y se invierten a valores positivos durante el sREM, (p< 0.0001; ver Figura 11C)



Figura 11. Promedios de la potencia, coherencia y la diferencia normalizada durante la W y el sueño. Los datos se obtuvieron de 4 ratas (G1); 12 ventanas de 100 s por animal para cada estado conductual. A. media de la potencia total (PT). B. coherencia-z'. C, diferencia potencia-coherencia (30-48 y 52-98 Hz) para las combinaciones de electrodos inta-hemisféricas (S1r-V1r) en ratas. Los valores representan la media ± error estándar. La significación estadística: + p <0.05 y * p <0.0001; ANOVA de una vía y "post hoc" de Tamhane.

8. Resultados correspondientes al

Objetivo Específico 3

El objetivo de esta sección fue entender si los cambios de sincronización local y entre áreas alejadas del encéfalo en la banda gamma de frecuencia observados en la ratas (Orden: *Rodentia*) y en el gato (Orden: *Carnívora*) son fenómenos conservados en estos dos órdenes de mamíferos.

8.1. Dinámica de la potencia, coherencia y sus interrelaciones durante el ciclo de sueño y vigilia en el gato

Los cambios dinámicos de la potencia total normalizada (PTN) son graficados durante el ciclo de sueño y W (Figura 12B). Se observa que en las bandas de 30-48 y 52-100 Hz la PTN presenta una dinámica similar en la corteza prefrontal (Pf) y parietal posterior (Pp) similar a lo observado en rata (Figura 9). La PTN es máxima durante la vigilia activa (AW) y progresivamente decrece durante la transición a vigilia tranquila (QW) hasta llegar al sNREM, donde presenta los valores mínimos en todas las cortezas y para ambas bandas de frecuencia analizadas. Siempre precedido de sNREM, el gato ingresa al sREM con un claro incremento en las dos bandas de potencia gamma, las cuales vuelven a valores más bajos cuando finaliza el sREM.

Analizamos los cambios dinámicos de la coherencia-z' en una combinación de electrodos. Dichos resultados fueron normalizados al máximo valor y graficados durante el ciclo de W y sueño (Figura 12C). En gato, la coherencia-z' gamma de 30-48 y 52-100 Hz, entre las cortezas Pf y Pp, es máxima durante la AW se reduce durante la QW y el sNREM, donde se mantienen a niveles estables (Figura 12C). Al ingresar al sREM, la coherencia gamma disminuye en las dos bandas de frecuencia y se recupera cuando el animal sale del sREM.

La diferencia potencia-coherencia fue analizada y graficada en el gato (Figura 12D). Durante la W estos valores se situaron cercanos a cero, esto era esperable dado que como mencionáramos antes y como sucede en rata, tanto la coherencia como la potencia presentan los máximos valores durante la W, en este caso la AW, comparados con el resto de los estados. Dado que la normalización se efectuó dividiendo a cada valor entre el máximo valor registrado es razonable encontrar que la resta de valores sea un número cercano a 0. Durante el sNREM estos valores se hacen negativos y durante la transición al sREM estos valores rápidamente se invierten a valores positivos. Estos cambios aparentan ser similares entre las dos bandas de actividad gamma analizadas e incluso similares a los previamente descriptos en ratas.


Figura 12. Dinámica de la potencia, coherencia y sus interrelaciones durante la W y el sueño del gato. A. Espectrogramas (0,1-50 Hz) de las cortezas prefrontal (Pf) y parietal posterior (Pp) y por debajo se representa el hipnograma correspondiente. Durante la vigilia activa (AW), en los espectrogramas se puede observar fácilmente la actividad gamma (≈40 Hz). La actividad gamma es mayor durante AW. Durante el sNREM, la actividad delta (0,1-4 Hz) es más prominente y hay episodios intermitentes de actividad sigma (9-15 Hz), que corresponden a la presencia de husos de sueño. B. La potencia total normalizada (PTN). C. coherencia-z' normalizada para ambas bandas gamma (30-48 y 52-98 Hz) analizadas en épocas de 10 s. Los valores máximos de potencia y coherencia se produjeron durante AW disminuyeron progresivamente durante QW y sNREM, durante la transición de sNREM a sREM se obtuvieron los valores mínimos de coherencia, junto a un cambio opuesto en la potencia (segmentos en rojo). D. Por debajo se gráfica la diferencia potencia-coherencia la cual deja cerca de cero a la AW y la QW, valores negativos durante sNREM y una inversión rápida a valores positivos durante el sREM. La calibración relativa de ambos espectrogramas utiliza los colores tendientes al rojo como mayores valores y menores valores las tendencias al azul y el negro.

8.2. Dinámica de la sincronización gamma de corto y largo rango durante las transiciones del sueño REM en el gato

Al igual que en la Figura 10 de rata se analizaron las transiciones (t) de entrada y salida del sREM. Se analizó la media ± el error de la potencia total (PT) y la coherencia-z' en dichas transiciones con una resolución temporal de 10 segundos (Figura 13). El comienzo del sREM está acompañado por un descenso de la coherencia-z' el cual es mantenido a bajos niveles durante todo este estado (trazados superiores de la Figura 13A) Durante la transición de salida del sREM a sNREM o a la W la coherencia-z' se incrementa hasta valores cercanos a los previamente registrados (Figura 13B).

En contraste la sincronización gamma local (potencia total gamma) se incrementa durante la entrada al sREM y cae nuevamente cuando el sREM finaliza. Al igual que lo que sucede en roedores, en muchas ocasiones la salida del sREM se transita con un momentáneo incremento en la potencia gamma que rápidamente decrece hasta valores menores a los del sREM. Nuevamente es importante aclarar que al igual que en la rata, durante la salida del sREM ocurren micro-despertares que pueden estar seguidos de sNREM o episodios de W. En este análisis solo se tomaron salida del sREM en donde luego del micro-despertar el animal volvía a sueño NREM.

Los resultados mostrados hasta el momento sugieren que durante las transiciones del sREM la sincronización local y entre áreas distantes de la corteza, en toda la banda gamma de frecuencia, transita con cambios opuestos y que dichos cambios son idénticos a los observados en la rata.



Figura 13. Potencia total (PT) y coherencia-z' durante las transiciones del sREM en el gato. A. Los gráficos representan la media ± error estándar del PT y z'-coherencia (por 30-48 y 52-98 Hz) de 30 transiciones de una derivación de gato (prefrontal-parietal posterior del mismo hemisferio). El cambio de color (verde-rojo) indica el inicio del sREM. B. El despertar del sREM. Los gráficos muestran la media PT o z'-coherencia ± error estándar (por 30-48 y 52-98 Hz) de 30 transiciones en la mismas derivación. El cambio de color (rojo-negro) indica el final de los episodios de sREM. Episodios sNREM se simbolizan en verde; Episodios de sREM en rojo. Los estados que siguieron los episodios de sREM se indican en negro (estas épocas fueron principalmente microdespertares seguidos de sNREM, pero transiciones directas al sNREM también fueron observados. Pf, pre-frontal. Pp, parietal posterior.

8.3. Promedio de la potencia, coherencia y sus interrelaciones durante el sueño y la vigilia en el gato

En gatos, la PT de la banda gamma es significativamente diferente entre los estados comportamentales para la corteza Pf (30–48 Hz, $F_{3,44}$ = 79.4, p < 0.001; 52–100 Hz, $F_{3,44}$ = 26.1,p < 0.001) y Pp (30–48 Hz, $F_{3,44}$ = 80.1, p < 0.001; 52–100 Hz, $F_{3,44}$ = 33.1, p < 0.001). En la Figura 14A (trazado superior) se muestra que, durante la AW, la PT gamma para ambas bandas de frecuencia fue significativamente mayor que el resto de los estados comportamentales en las cortezas Pf y Pp. El mínimo valor de PT corresponde al sNREM y no fue diferente de la QW en la corteza Pp entre los 30-48 Hz. Por otra parte, para ambas bandas de frecuencia, la PT en el sREM es siempre mayor que la del sNREM y no fue diferente de la registrada durante la QW.

Analizamos la coherencia-z' gamma para una combinación de electrodos durante los diferentes estados comportamentales (Figura 14B). En gatos existen diferencias significativas para las combinaciones intrahemisféricas de electrodos Pf y Pp (30-48 Hz, $F_{3.44}$ = 123.5, p < 0.001; 52–100 Hz, $F_{3,44}$ = 58.4, p < 0.001). Durante la AW la coherencia-z' gamma, para ambas bandas de frecuencia, fue significativamente mayor en comparación al resto de los estados comportamentales, por otra parte los valores mínimos de coherencia se presentaron durante el sREM (p < 0.001). La coherencia gamma no presentó diferencias significativas entre la QW y sNREM. Estos resultados fueron similares a los previamente publicados (Castro et al., 2013)

Se calcularon las medias de la interrelación potencia-coherencia de la forma descripta en la sección 5.5. En los gatos, la diferencia potencia-coherencia mostró diferencias significativas para la banda gamma de frecuencias (30 a 48 Hz, F_{3.44} = 13.2, p <0.001; 52 a 100 Hz, F_{3.44} = 86.1, p <0.001). Durante la AW esta diferencia se situó muy cerca de cero, para la banda gamma 52-100 Hz V significativamente diferentes del resto de los estados de comportamiento (p < 0.001) y para 30-48 Hz la AW no fue diferente de la QW. Durante el sNREM la diferencia potencia-coherencia gamma presenta valores negativos. Durante el sREM ambas bandas gamma invierten su relación presentando valores positivos significativamente mayores que el resto de los estados de comportamiento (p < 0.001; ver Figura 14C).

40



Figura 14. Promedios \pm error estándar de la potencia total (PT), coherencia-z' y la diferencia normalizada durante la W y el sueño. Los datos se obtuvieron de 2 gatos. 6 ventanas de 100 s por animal para cada estado conductual. A. media de la PT. B. coherencia-z'. C. diferencia potencia-coherencia (30-48 y 52-98 Hz) para las combinaciones de electrodos inta-hemisféricas (Pf-Pp) en el gato. Los valores representan la media \pm error estándar. La significación estadística: + p <0.05 y * p <0.0001; ANOVA de una vía y "post hoc" de Tamhane.

9. Discusión

En el presente estudio, hemos demostrado que:

- En la rata, la coherencia gamma (30-48 y 52-100 Hz) es mínima durante el sREM comparado con el resto de los estados comportamentales.
- En el mismo modelo animal, la sincronización local (potencia) y entre áreas distantes (coherencia), en la banda gamma de frecuencia (30-48 y 52-100 Hz), presentan cambios opuestos durante el sREM, donde a pesar que la potencia aumenta a valores similares a los de la W, las áreas distantes

presentan la mínima coherencia a estas frecuencias.

- 3) En ratas y gatos, analizando la interrelación entre la sincronización local y la sincronización de largo rango entre áreas distantes de la neocorteza, en la banda gamma de frecuencias, se pueden distinguir todos los estados comportamentales estudiados en la presente Tesis.
- Encontramos similares resultados en gatos y ratas que nos sugieren que dichas características son conservadas en estos dos órdenes de mamíferos (*Carnívora y Rodentia*)

9.1. Potencia y coherencia gamma durante la vigilia

En la presente Tesis, los mayores niveles de potencia y coherencia gamma se observaron durante la W en la rata y la AW en el gato. En la rata las diferencias dependientes de las condiciones de la W (AW o QW) no se estudiaron en esta Tesis. Al respecto, Maloney et al., (1998) mostraron que los mayores valores de potencia gamma se producen durante los períodos de AW para este modelo animal (Maloney et al., 1997). En humanos, los máximos valores de potencia y coherencia gamma también se observan durante la W (Joliot et al., 1994; Llinás and Ribary, 1993; Llinás et al., 1998).

9.2. Potencia y coherencia gamma durante el sueño REM

Mostramos en ratas que el nivel mínimo de coherencia gamma se da durante el sREM, pero sin embargo, la potencia de esta banda de frecuencia se incrementa. Este resultado concuerda con los resultados de nuestros estudios previos en el gato (Castro et al., 2014c, 2013), donde la coherencia gamma fue casi nula durante el sREM en las combinaciones intra inter-hemisféricas. Trabajando en е colaboración con grupos del Departamento de Neurología y de Neuopediatría de la Facultad de Medicina-UdelaR, encontramos similares resultados en recién nacidos (Castro et al., 2014a). A su vez, vimos que está pérdida de coherencia gamma se conserva en el modelo de sREM inducido por la administración de carbacol en el núcleo pontis oralis (NPO) del gato, mientras que aumenta durante el estado de cataplejia (vigilia con atonía de la musculatura esquelética) inducido por la misma maniobra (Torterolo et al., 2015). La demostración de que existe una gran reducción de la coherencia gamma entre regiones corticales distantes durante el sREM no contradice las conclusiones de Steriade et al. (1996), que mostró un aumento en el acoplamiento local (dentro de una columna o entre sitios corticales cercanos) durante los estados activados de W y sREM (Steriade et al., 1996). De hecho, nuestros resultados muestran que, la potencia gamma (como un reflejo de la sincronización gamma local) durante el sREM presenta valores cercanos a los de la W, y mayores que durante el sNREM. Por lo tanto, aunque la actividad gamma es grande durante el sREM, el acoplamiento de las oscilaciones gamma entre diferentes áreas corticales (reflejados por la coherencia gamma) fue mínimo. En los seres humanos adultos, Llinas & Ribary (Llinás and Ribary, 1993) mostraron que en el sREM se pueden observar momentos con oscilaciones de 40 Hz, registrado por magneto-EEG, similares en su distribución, fase y amplitud a los observados durante la W. En contraste, Pérez-Garci et al., (2001) mostraron que existe una disminución en los espectros de correlación en ventanas de 2 segundos para frecuencias rápidas (27-48 las Hz) restringidas en regiones corticales frontales intra-hemisféricas durante el sREM (Pérez-Garci et al., 2001). Por el contrario, la sincronía gamma entre algunas regiones corticales homólogas de ambos hemisferios aumentaría durante el sREM en los humanos (Corsi-Cabrera et al., 2014; Pérez-Garci et al., 2001). Cantero at al., (2004) empleando registros intracraneales del EEG en humanos, analizaron la coherencia durante el sueño, lo que le permitió una escala espacial mucho más fina que las registradas desde señales el cuero cabelludo. Encontraron que la coherencia local (dentro de las regiones neocorticales) y de largo rango (entre regiones neocorticales intra-hemisféricas distantes) entre los 35-58 Hz fue significativamente mayor durante la W que durante el sueño. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la coherencia entre sNREM y sREM (Cantero et al., 2004). Además, se observó acoplamiento funcional de la actividad gamma entre el neocortex y el hipocampo durante la W, pero no durante el sREM. Por último, Voss at al., (2009) demostraron que la coherencia gamma disminuye durante el sREM en comparación con el estado de W. Además, durante el sueño lúcido (sREM donde el individuo es consciente de estar soñando), los valores de coherencia son intermedios entre la W y el sREM (Voss et al., 2009).

Al igual que con otros ritmos del EEG, las oscilaciones gamma están notablemente conservadas en los mamíferos, independientemente del tamaño del cerebro (Buzsáki et al., 2013). La disminución de la coherencia gamma durante el sREM en ratas, en gatos (Castro et al., 2014c, 2013) y en los seres humanos (Cantero et al., 2004; Castro et al., 2014a; Pérez-Garci et al., 2001; Voss et al., 2009) sugiere que estas características se encontrarían conservadas en los mamíferos. Durante el sREM existe esta disminución de la coherencia la cual interpretamos como una disminución en la capacidad de integración entre las diferentes cortezas para las altas frecuencias y esto ocurre a pesar de la existencia de una gran actividad local en la misma frecuencia (Maloney et al., 1997; Penley et al., 2012; Steriade et al., 1996). Un esquema donde resumimos gráficamente los fenómenos de sincronización gamma durante el ciclo de sueño y W se muestra en la Figura 15.



Figura 15. Representación esquemática de la sincronización gamma de corto y largo rango durante la vigilia (W), el sNREM y el sREM. Los pequeños círculos representan neuronas mientras que los círculos grandes representan las áreas de la corteza donde estas neuronas trabajan. Los colores en las neuronas representan los estados comportamentales del sujeto (azul = vigilia, verde = sueño lento y rojo = sueño REM) y los vínculos entre los círculos representan la sincronización gamma en un momento particular. Durante W los grupos neuronales tienden a sincronizar periódicamente su actividad y crear las señales del EEG que se registran bajo estas áreas. Durante W, grupos de neuronas localizadas en diferentes áreas corticales son capaces de sincronizar su actividad, aumentando así la coherencia entre las dos señales del EEG registradas simultáneamente. Durante el sNREM las unidades de las distintas áreas se desacoplan determinando que no se observe claramente una oscilación periódica en el EEG, pero a pesar de la poca potencia de las señales registradas localmente, aún existen algo de sincronización entre áreas alejadas. Durante el sREM cada área en particular es capaz de generar sincronización entre sus neuronas pero estas poblaciones de neuronas no son capaces de sincronizarse entre áreas distantes, lo que genera una pérdida de la coherencia del EEG en la banda gamma de frecuencia.

Un estudio reciente mostró que la estimulación eléctrica fronto-temporal sobre el cuero cabelludo en la banda gamma (≈40 Hz) durante el sREM es capaz de influenciar la activación cortical en la misma frecuencia e induce la conciencia auto-reflexiva (una característica de la vigilia) en los ensueños

(*i.e.*, genera sueños lúcidos), mientras que otras frecuencias de estimulación no son eficaces (Voss et al., 2014). Por lo tanto, los datos apoyan el concepto de que las oscilaciones sincrónicas gamma entre áreas del cerebro (≈40 Hz) son un patrón electrofisiológico de actividad que es indicativo de la W. Por el contrario, la reducción de la coherencia gamma durante el sREM (Cantero et al., 2004; Castro et al., 2013; Pérez-Garci et al., 2001; Voss et al., 2009) junto con el aumento de la actividad gamma local (Castro et al., 2013; Maloney et al., 1997; Steriade et al., 1996), pueden ser la base del patrón único observado durante el sREM, es decir, los ensueños (Hobson, 2009; Nir and Tononi, 2010).

9.3. Coherencia gamma y los sistemas activadores

El trabajo clásico de Moruzzi y Magoun (1949) mostró por primera vez que, en animales anestesiados, la estimulación eléctrica de la Formación Reticulada (FR) produce un despertar electroencefalográfico. En otras palabras, lleva el ritmo basal lento de la anestesia general, el cual es similar al del sNREM, a una "desincronización" cortical característica de la W. Esta activación del EEG es generalizada (en todo el neocórtex), y en animales ligeramente anestesiados puede acompañarse de despertar comportamental (Moruzzi and Magoun, 1949; Torterolo and Vanini. 2010). Posterior este а descubrimiento, múltiples trabajos mostraron la existencia de varios grupos neuronales en diferentes áreas del cerebro relacionados con la generación y el mantenimiento de la W, los cuales se le denominan "sistemas activadores" (Torterolo and Vanini, 2010).

Los sistemas activadores proyectan a núcleos específicos y no específicos del tálamo y la corteza cerebral (Torterolo and Vanini, 2010). Actualmente, se conoce que la actividad cognitiva y los distintos ritmos electroencefalográficos son generados por la actividad de neuronas talámicas y corticales que están conectadas recíprocamente entre sí (Llinás et al., 1998). Los sistemas activadores "activan" el EEG y producen el despertar comportamental, actuando directamente sobre el tálamo y sobre la corteza cerebral. Por otra parte, el tálamo es crítico en la generación de las ondas lentas y de los husos de sueño del sNREM (Torterolo and Vanini, 2010); las lesiones talámicas, como las que ocurren en el "insomnio familiar fatal", bloquean la generación de estos signos electrográficos (Montagna, 2005).

Los sistemas activadores se componen de distintos grupos neuronales que difieren en los neurotransmisores que utilizan, su localización y sus proyecciones. Por otro lado, gran parte de estos comparten la característica de poseer proyecciones de tipo difusa.

neuronales Los grupos que componen los sistemas activadores y que se activan durante la W son: neuronas glutamatérgicas mesopontinas, neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus, neuronas dopaminérgicas mesencefálicas, neuronas serotoninérgicas de los núcleos rostrales del rafe, neuronas colinérgicas mesopontinas. neuronas gabaérgicas mesopontinas, neuronas histaminérgicas del hipotálamo posterior. neuronas hipocretinérgicas del hipotálamo posterior y las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior (Torterolo and Vanini, 2010).

Existe una importante interrelación anatómica y funcional entre los grupos activadores. Esto sugiere que estos sistemas actúan de forma conjunta o complementaria para el mantenimiento del estado de W. Todos los sistemas activadores disminuyen su actividad durante el sNREM, siendo necesaria su inhibición para que este estado se produzca (Torterolo and Vanini, 2010). Sin embargo, la actividad de los distintos componentes de los sistemas activadores difiere notablemente durante el sREM. Mientras que los sistemas monoaminérgicos se "apagan" durante el sREM (neuronas REM-off), las neuronas colinérgicas aumentan su descarga durante

este estado comportamental (neuronas REM-on), contribuyendo a la activación cortical característica de este estado (McCarley, 2007).

Trabajos preliminares de nuestro grupo muestran que la administración sistémica de bloqueantes competitivos de los receptores muscarínicos de acetilcolina (atropina y escopolamina) en gatos, genera W comportamental con ondas lentas similar al que se observa durante el sNREM (disociación electroencefalográfica ۷ comportamental). Por otra parte, el análisis detallado de dichos registros revela que a pesar de tener ondas lentas (características del sNREM), la coherencia gamma se mantiene en valores similares a los de la W (Castro et al., 2014b). El hecho de que las neuronas colinérgicas se activen durante el sREM y que la acción de la atropina o escopolamina no sea capaz de disminuir la coherencia gamma nos hace pensar que estas neuronas no son las responsables de generar el ambiente neuronal necesario para obtener los valores de coherencia gamma registrados durante la W. Dado esto, pensamos en un efecto activador local de las neuronas colinérgicas durante el sREM, y que la pérdida de coherencia en la banda gamma del EEG entre áreas neocorticales (presente Tesis) podría estar relacionado a la pérdida de actividad de las

neuronas monoaminérgicas, que se apagan durante el sREM.

Durante W, la las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus aumentan de forma marcada su frecuencia de descarga frente a estímulos nuevos, habituándose frente a la repetición. Se postula que este grupo neuronal tiene un importante papel regulatorio de los estados atencionales (Foote et al., 1991). Por otra parte, en perros narcolépticos estas neuronas se apagan durante el estado de cataplejía (Wu et al., 1999). Este dato sugiere que las neuronas noradrenérgicas del locus ceroleus no son las responsables de generar y mantener la actividad coherente en la banda gamma entre áreas distantes de la neocorteza durante la W, dado que estas se apagan durante la cataplejia donde la actividad cognitiva y la coherencia gamma son similares a la de la W.

La frecuencia de descarga de las neuronas dopaminérgicas y la concentración extracelular de dopamina en la corteza prefrontal aumentan durante la W y frente a estímulos relacionados con recompensa (Feenstra, 2000; Mirenowicz and Schultz, 1996; Torterolo and Vanini, 2010). Por otra parte, estudios muestran que las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra (SN) y del área tegmental ventral (VTA) presentan su máxima descarga tónica cuando los animales tienen la máxima incertidumbre de recibir una recompensa asociada a un estímulo condicionado. Cuando los animales aprenden a predecir que esa recompensa siempre o nunca aparece (tienen certeza del resultado en función de su experiencia previa), se observa la mínima actividad tónica de estas neuronas (Fiorillo et al., 2003).

En nuestra experiencia, observamos que la coherencia gamma es máxima durante la vigilia alerta (AW generada por diversos estímulos). La coherencia gamma presenta picos cuando el investigador ingresa a la sala de registro, pero estos picos disminuyen pasado un tiempo dentro de la sala. Por otra parte, los estímulos sonoros repetitivos generan una rápida habituación asociada a una caída de la potencia y coherencia gamma (Castro et al., 2014c, 2013). De hecho, los picos máximos de coherencia gamma fueron registrados durante estímulos novedosos (incertidumbre ambiental). En uno de los gatos, el máximo pico de coherencia gamma nunca antes registrado fue durante el ingreso a la sala de registro de individuos desconocidos para el animal. Por otra parte, otro gran pico de coherencia gamma fue registrado cuando se dio por primera vez una porción de atún a uno de los gatos (ver Figura 16). Todo esto sugiere que el sistema dopaminérgico podría estar involucrado en la generación y el mantenimiento de la coherencia gamma durante la vigilia y sus variaciones intraestado.



Figura 16. Cambios dinámicos de la coherencia gamma (30-45 Hz) durante el ciclo de sueño y vigilia en el gato. A. cambios dinámicos de la coherencia gamma durante el ciclo de sueño y vigilia. Al principio del registro se observa un aumento leve de coherencia gamma entre cortezas cuando al animal se le presenta su propia imagen reflejada en un espejo. Este es un estímulo al que el animal ya había sido habituado previamente. Luego los valores de coherencia se mantienen intermedios durante la vigilia tranquila y el sueño de ondas lentas. Durante el sREM se observa una franca caída en la coherencia gamma entre los pares de cortezas registradas, efecto que se revierte cuando el animal sale del sREM. Un tiempo después los investigadores ingresan al ambiente de registro donde se observa nuevamente un aumento de la coherencia gamma. Los valores de coherencia gamma son máximos cuando al animal se le presenta un estímulo olfativo novedoso (atún). Se muestra la coherencia entre cortezas pre frontal y parietal posterior (resultados preliminares de Castro et al.).

10. Conclusiones

Durante el sREM, a pesar de tener un EEG localmente activado, existe un desacople de las actividades gamma de frecuencias entre sitios neocorticales distantes. Por lo tanto, las interacciones funcionales entre las diferentes áreas corticales, que son fundamentales para las funciones cognitivas, son diferentes durante la W y el sREM. Dado que esta característica otros se conserva en mamíferos. incluidos los humanos,

consideramos que este acoplamiento y desacoplamiento de corto y largo rango, en la banda gamma de frecuencia es un rasgo característico y conservado del sREM en los mamíferos.

11. Perspectivas

11.1. Actividad gamma y dopamina

Como se mencionó en la última sección de Discusión (9.3.) uno de los posibles implicados en los cambios observados en la coherencia gamma del EEG durante el ciclo de sueño y W podrían ser las neuronas dopaminérgicas de la SN y la VTA.

Para investigar esto estudiaremos los efectos de la lesión uni y bilateral de la sustancia nigra pars compacta y VTA mediante la aplicación intra-cerebral de 6HO-DA (droga que lesiona las neuronas monoaminérgicas). Se analizará la potencia espectral y la coherencia del EEG en la banda gamma de frecuencias (30-100 Hz) de las distintas cortezas registradas durante los diferentes estados comportamentales y se evaluará la significancia entre diferentes estados, antes y después de la lesión en la SN o VTA con 6HO-DA.

Por otra parte, en rata y gato, evaluaremos la acción dopaminérgica sobre la actividad gamma mediante la aplicación sistémica e intra-cerebro-ventricular de agonistas y antagonistas de los diferentes receptores dopaminérgicos durante la W y el sueño.

11.2. Actividad gamma en un modelo farmacológico de psicosis

Como se mencionó en la Introducción, la coherencia en la banda gamma de frecuencia se pierde durante la narcosis (inconsciencia) inducida por la anestesia (John, 2002; Mashour, 2006). La mayoría de los anestésicos generales tradicionales (barbitúricos, isofluorano, etc.) generan una pérdida de conciencia asociada a la aparición de un EEG predominantemente lento. donde se imponen las ondas de baja frecuencia (0,1-4 Hz) y gran amplitud junto con la reducción de la actividad de alta frecuencia (> 30 Hz). El patrón del EEG durante esta anestesia se asemeja mucho al observado durante las etapas más profundas del sNREM (John, 2002; Mashour, 2006) donde existe una relación inversa entre las ondas delta y la actividad gamma (Maloney et al., 1997) y donde la actividad cognitiva es prácticamente nula (Hobson, 2009).

Por otra parte, los anestésicos llamados disociativos, como ketamina, fenciclidina (PCP), dizocilpina (MK-801), generan su efecto anestésico junto a la activación cortical y el aumento del gasto metabólico del cerebro. Estos efectos son similares a los que se observan durante la W y el sREM (Maquet et al., 2000; Mashour, 2006).

La ketamina el PCP y MK-801 son antagonistas de los receptores NMDA y el uso de estos antagonistas a dosis subanestésicas son considerado un modelo farmacológico de psicosis (Javitt and Zukin, En animales, la administración 1991). sistémica de los antagonistas NMDA, a dosis subanestésicas induce un síndrome conductual motor (SCM) caracterizado por hiperlocomoción con un patrón desorganizado, estereotipias y signos de ataxia. Este síndrome se ha vinculado con la sintomatología positiva (psicosis) de los trastornos del espectro psicótico (Moghaddam and Jackson, 2003; Rung et al., 2005). A su vez, producen un déficit sensorial y alteraciones en la función cognitiva (aprendizaje, memoria de asociación y espacial, memoria de trabajo, atención) que recuerdan los trastornos observados en la esquizofrenia (Geyer and Ellenbroek, 2003), mientras que estas conductas son bloqueadas por fármacos antipsicóticos. Es importante recordar que estas sustancias son utilizadas como drogas de recreación en Uruguay (JND, 2012) y el mundo (Hsu, 2014) por sus efectos psicodélicos, mientras que a altas dosis son utilizados como anestésicos en el ámbito

veterinario y en la clínica (especialmente en neonatos). Recientemente también se demostró que la ketamina tiene potentes efectos antidepresivos (Coyle and Laws, 2015; Lee et al., 2015; Lodge and Mercier, 2015).

Se han reportado cambios en la actividad gamma del EEG de la rata bajo el efecto de dosis anestésicas y subanestésicas de ketamina (Lazarewicz et al., 2010; Pal et al., 2015). Resultados preliminares de nuestro grupo muestran que el EEG bajo el efecto sub anestésico de la ketamina es similar a la W y el sREM. Por otra parte observamos aumento de la potencia gamma en cada electrodo registrado, pero lo más interesante es que la coherencia entre áreas alejadas de la corteza se ve reducida durante los primeros efectos de la Ketamina (resultados preliminares, Figura 17), que es donde se registran los efectos psicodélicos más fuertes en humanos. Estos cambios son similares a los registrados y demostrados en esta Tesis, ya que bajo ketamina existe un aumento de la actividad gamma en cada registrada, embargo corteza sin la coherencia gamma se ve drásticamente reducida.

Las alucinaciones en algunos de los trastornos del espectro psicótico tienen características similares a las experiencias oníricas del sREM; en ambas condiciones existe la generación de percepciones generadas internamente, disminuye la actividad de la corteza prefrontal y hay cambios drásticos de la vía dopaminérgica mesolímbica (Braun et al., 1997; Gottesmann and Gottesman. 2007: Gottesmann, 2006). Por esto, el sREM es considerado como un modelo natural de psicosis (Benson and Zarcone, 1985; Hobson, 1997; Scarone et al., 2008).

Nuestras recientes publicaciones y los datos recabados hasta el momento sugieren que, una de las características compartidas entre el sREM, el antagonismo de los receptores NMDA y los pacientes psicóticos son los cambios en la actividad eléctrica cortical especialmente en la banda gamma de frecuencias (30-100 Hz). Particularmente el déficit de coherencia entre áreas corticales distantes nos hace pensar que los ensueños, los eventos psicóticos clínicos o inducidos por dosis sub-anestésicas de antagonistas NMDA se deben a la pérdida de sincronización de la actividad eléctrica cerebral en la banda gamma de frecuencia. Esto impediría la correcta unificación de la actividad cerebral distribuida, necesaria para sustentar los procesos cognitivos durante la W en los individuos sanos.



Figura 17. Cambios dinámicos de la coherencia y potencia gamma durante la W y los efectos de la aplicación sistémica de ketamina en la rata. Durante la W se inyecta ketamina a dosis sub-anestésicas (flecha). Enseguida se observa un pico de potencia gamma en cada espectrograma (0-100 Hz) de cada corteza registrada. Esta actividad se encuentra en el entorno de los 50 Hz pero se extiende en todo el espectro gamma. Tanto en la W como en los espectrogramas post inyección se puede observar claramente la actividad theta (4-9 Hz) característica de la AW y del sREM (ver Recuadro 2). El registro superior corresponde al espectrograma de coherencia entre las cortezas mostradas en los espectrogramas de potencia (espectrogramas inferiores). Aquí se aprecian picos de coherencia gamma antes de la inyección correspondientes con el ingreso de los investigadores a la sala de registro. Posterior a la invección se observa una caída marcada de la coherencia gamma en todo su espectro la cual se mantiene durante todo el registro. Por otra parte la potencia y coherencia theta se mantiene e incluso se incrementa post inyección. Aumentos de frecuencia, potencia y coherencia theta se aprecian también durante el sREM comparado con el estado de W (presente Tesis y Recuadro 2). Corteza visual secundaria (V2) y motora secundaria (M2). La calibración relativa de ambos espectrogramas utiliza los colores tendientes al rojo como mayores valores y menores valores las tendencias negro. azul al y el

11.3. Artículo publicado: Inter-hemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness.

Contents lists available at ScienceDirect

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet

Inter-hemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness

Santiago Castro^a, Matias Cavelli^a, Patricia Vollono^a, Michael H. Chase^{b,c}, Atilio Falconi^a, Pablo Torterolo^{a,*}

^a Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay ^b WebSciences International, Los Angeles, CA, USA

^c UCLA School of Medicine, Los Angeles, CA, USA

HIGHLIGHTS

• The electroencephalogram of adult cats was recorded during sleep and wakefulness.

• The inter-hemispheric coherence of the EEG gamma frequency band was analyzed.

• The coherence was larger in alert wakefulness and almost absent during REM sleep.

ARTICLE INFO

Article history: Received 17 March 2014 Received in revised form 18 May 2014 Accepted 20 June 2014 Available online 30 June 2014

Keywords: Cortex Consciousness EEG Synchronization REM

ABSTRACT

Oscillations in the gamma frequency band (mainly ≈40 Hz) of the electroencephalogram (EEG) have been involved in the binding of spatially separated but temporally correlated neural events that result in a unified perceptual experience. The extent of these interactions can be examined by means of a mathematical algorithm called "coherence", which reflects the "strength" of functional interactions between cortical areas. As a continuation of a previous study of our group, the present study was conducted to analyze the inter-hemispheric coherence of the EEG gamma frequency band in the cat during alert wakefulness (AW), quiet wakefulness (OW), non-REM (NREM) sleep and REM sleep. Cats were implanted with electrodes in the frontal, parietal and occipital cortices to monitor EEG activity. The degree of coherence in the low (30-45 Hz) and high (60-100 Hz) gamma frequency bands from pairs of EEG recordings was analyzed. A large increase in coherence between all inter-hemispheric cortical regions in the low gamma bands during AW was present compared to the other behavioral states. Furthermore, both low and high gamma coherence between inter-hemispheric heterotopic cortices (different cortical areas of both hemispheres) decreased during REM sleep; this is a pattern that we previously reported between the cortical areas of the same hemisphere (intrahemispheric coherence). In the high gamma band, coherence during REM sleep also decreased compared to the other behavioral states. In contrast, between most of the interhemispheric homotopic cortical areas (equivalent or mirror areas of both hemispheres), low gamma coherence was similar during NREM compared to REM sleep. We conclude that in spite of subtle differences between homotopic and heterotopic inter-hemispheric cortices, functional interactions at high frequency decrease during REM sleep.

© 2014 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Inter-hemispheric communication is achieved by information that is carried by the corpus callosum, anterior commisure and subcortical pathways [1]. Classical split-brain research wherein

http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2014.06.044 0304-3940/© 2014 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved. the corpus callosum is severed has demonstrated that interhemispheric communication subserves a large range of behaviors and cognitive functions [16]. For example, recent experiments have pointed out that transient coherent inter-hemispheric coordination underlies functions such as lexical processing [13].

Electroencephalographic (EEG) oscillations in the gamma frequency band (mainly \approx 40 Hz) are involved in the integration or binding of spatially separated but temporally correlated neural events. An increase in gamma power typically appears during states/behaviors that are characterized by active cognitive







^{*} Corresponding author at: Facultad de Medicina, Universidad de la República, General Flores 2125, 11800 Montevideo, Uruguay. Tel.: +598 2924 34 14x3234. *E-mail address*: ptortero@fmed.edu.uy (P. Torterolo).



Fig. 1. Gamma oscillations during alert wakefulness and REM sleep. (A) Summary of the position of electrodes on the surface of the primary sensory, association sensory and prefrontal cerebral cortices. These electrodes were referred to a common indifferent electrode, which was located over the frontal sinus. C1–C4, are the animals' names. Pf, prefrontal cortex; Pp, posterior-parietal cortex; S1, somatosensory cortex; V1, visual primary cortex; r, right; I, left. (B) Simultaneous raw and filtered (35–40 Hz) cortical recordings from the right prefrontal (rPf), right posterior-parietal cortex (rPp) and left posterior-parietal cortex. (IPp) during alert wakefulness. Gamma oscillations, which are readily observed in the raw recordings (arrows), are highlighted after filtering. Calibration bars: 1 s and 200 µV for raw recordings and 20 µV for filtered recordings. (C) Simultaneous raw and filtered (35–40 Hz) cortical recordings during REM sleep. The amplitude and duration of gamma oscillations decreased compared to alert wakefulness. Calibration bars, as in B.

processing of external percepts or internally generated thoughts and images in humans, and during attentive wakefulness in animals [8,28,29].

The degree of EEG coherence between two cortical regions is believed to reflect the strength of the functional interconnections that occur between them [7]. Coherent EEG activity in the gamma frequency band increases during different behaviors and cognitive functions in both animals and humans [5,6]. In this regard, both gamma activity and gamma coherence between different brain areas has been viewed as a possible neural correlate of consciousness [22].

In the cat, EEG "bursts" of 35–40 Hz oscillations of 200–500 ms and approximately 25 μ V can be easily observed in raw EEG recordings ([10] and Fig. 1). Furthermore, EEG intra-hemispheric coherence at 35–40 Hz is greater during alert (AW) than quiet (QW) wakefulness [10]. In addition, intra-hemispheric coherence in the low (35–40 Hz) and high (60–100 Hz) gamma bands decrease to a lower level during non-REM (NREM) sleep, but reaches its nadir during REM sleep. Therefore, during REM sleep, the coupling of high frequency neuronal activity among different cortical areas of the same hemisphere is practically eliminated [10]; comparable results were obtained by other authors utilizing different experimental approaches [9,25,31]. Note that cognitive activities not only occur during wakefulness; dreams, that occur more prominently during rapid eye movement (REM) sleep, are considered a special kind of cognitive activity or proto-consciousness [19].

How is the functional interaction in the gamma frequency band between both hemispheres? Interestingly, a recent study showed that in the condition of corpus callosum agenesia, the gamma coherence (30–55 Hz) did not change during the resting state [18]. However, a subtle increase in gamma band (up to 50 Hz) coherence during REM sleep has been observed in EEG recordings in humans between anterior inter-hemispheric homotopic (equivalent areas of both cerebral hemispheres) leads [2,3]. Consequently, the present study was conducted to determine the interhemispheric coherence in the low (30–45 Hz) and high (60–100 Hz) gamma band between homotopic and heterotopic (different areas of both cerebral hemispheres) cortical areas, during sleep and wakefulness, utilizing the cat as the animal model.

2. Materials and methods

2.1. Experimental animals

Four adult cats (the same as in [10]) were used in this study. The animals were obtained from, and determined to be in good health, by the Institutional Animal Care Facility. All experimental procedures were conducted in accord with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8th edition, National Academy Press, Washington, DC, 2011) and approved by the Institutional Animal Care Commission. Adequate measures were taken to minimize pain, discomfort or stress of the animals. In addition, all efforts were made in

order to use the minimum number of animals necessary to produce reliable scientific data.

For details regarding the surgical and experimental procedures see [10]. Briefly, the animals were implanted with electrodes to monitor the states of sleep and wakefulness. Stainless steel screw electrodes (1.4 mm diameter) were placed on the surface (above the dura matter) of different cortical areas. Fig. 1A shows the place of the recording electrodes used in this study. The electrodes were connected to a Winchester plug that together with two plastic tubes, were bonded to the skull with acrylic cement in order to maintain the animal's head fixed in stereotaxic position without pain or pressure [10]. After the animals had recovered from the preceding surgical procedures, they were adapted to the recording environment for a period of at least two weeks.

Experimental sessions of 4 h in duration were conducted between 11 A.M. and 3 P.M. in a temperature-controlled environment $(21-23 \,^{\circ}C)$. During these sessions (as well as during the adaptation sessions), the animal's head was held in a stereotaxic position by four steel bars that were placed into the chronically implanted plastic tubes, while the body rested in a sleeping bag.

The simultaneous activity of three cortical areas from the same cerebral hemisphere was recorded with monopolar electrodes, utilizing a common reference electrode located in the left frontal sinus. The electromyogram (EMG) of the nuchal muscle, which was recorded by means of acutely placed bipolar electrode, was also monitored. Each cat was recorded daily for a period of approximately 30 days in order to obtain complete data sets. Bioelectric signals were amplified (\times 1000), filtered (0.1–100 Hz), sampled (512 Hz, 2¹⁶ bits) and stored in a PC using the Spike 2 software (Cambridge Electronic Design). Data were obtained during spontaneously occurring quiet wakefulness (QW), REM sleep and non-REM sleep (NREM). Alert wakefulness (AW) was induced for a period of 300 s by a sound stimulus, which was introduced approximately 30 min after the beginning of the recording [10]. The sound stimulus consisted of clicks (0.1 ms in duration) of 60–100 dB SPL in intensity with a variable frequency of presentation (1–500 Hz, modified at random by the operator) in order to avoid habituation [10].

Sleep and waking states were quantified in epochs of 10 s. Selected recordings were filtered (band pass 30–45 Hz) and were processed by means of spectrograms (Fig. 2).

In order to analyze coherence between pairs of EEG channels, 12 manually selected artifact-free periods of 100 s were examined during each behavioral state (1200 s for each behavioral state). For each pair of recordings, data were obtained during four recording sessions.

For each 100 s period, the Magnitude Squared Coherence was analyzed by means of Spike 2 script COHER 1S (Cambridge Electronic Design) (see [10] for details in coherence definition).

The coherence between two EEG channels that were recorded simultaneously during 100s periods was analyzed. This period of analysis was divided into 100 time-blocks with a sample rate of 512 Hz, a bin size of 1024 samples and a resolution of 0.5 Hz. Coherence between two waveforms is a function of frequency and ranges



Fig. 2. Graphics that show the averaged z'-coherences profiles between representative intra-hemispheric (A), inter-hemispheric heterotopic (B) and inter-hemispheric homotopic (C) cortical areas during alert wakefulness (AW), quiet wakefulness (QW), non-REM sleep (NREM) and REM sleep in cat 4. (D) Spectrogram of the EEG gamma band of left posterior parietal (PpI), right posterior parietal (Ppr) and right perfontal cortex (Pfr). The dynamic of the gamma power during alert wakefulness is very similar in the recorded cortices. On the contrary, during REM sleep the gamma power coupling was reduced. However, the dynamic of the gamma power have some similarities between left and right parietal posterior cortices, but is very different between any of them and the prefrontal cortex. Calibration bar: 5 s.

Table I	
Gamma (35–40 Hz) z'-coheren	nce values during sleep and wakefulness.

Animal	Derivates	AW	OW	NREM	REM	Statistical significance	F
			6				
C1	S1r-V1l	0.76 ± 0.03	0.35 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.18 ± 0.01	+AW vs. all; +QW vs. REM and NREM; +NREM vs. REM	202
	Ppr-V11	1.31 ± 0.06	0.89 ± 0.06	0.92 ± 0.06	0.75 ± 0.06	+AW vs. all; +QW vs. REM; +NREM vs. REM	46
C2	Pfr-Ppl	0.49 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.09 ± 0.01	++AW vs. all; +QW vs. NREM and REM; +NREM vs. REM	55
	Ppr-Ppl	0.95 ± 0.04	0.46 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.20 ± 0.03	++AW vs. all; +QW vs. NREM and REM	73
	V1r-V1l	1.70 ± 0.02	1.48 ± 0.01	1.42 ± 0.01	1.35 ± 0.01	+AW vs. all; +QW vs. REM; +NREM vs. REM	40
	S1r-S1l	0.64 ± 0.02	0.46 ± 0.01	0.45 ± 0.02	0.38 ± 0.01	++AW vs. all; +QW vs. REM	107
C3	S1r-Ppl	0.23 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01	++AW vs. all; +QW vs. NREM and REM; +NREM vs. REM	111
	Ppr-Ppl	0.43 ± 0.01	0.34 ± 0.04	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	+AW vs. all; +QW vs. NREM and REM	31
C4	Pfr-Ppl	0.78 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.02 ± 0.01	++AW vs. all; +QW vs. NREM and REM; +NREM vs. REM	120
	Ppr-Ppl	1.20 ± 0.03	0.55 ± 0.07	0.41 ± 0.02	0.37 ± 0.01	++AW vs. all; +QW vs. NREM and REM	90

The values represent mean \pm standard error. +*P*<0.05. ++*P*<0.0001, ANOVA with Tamhane tests. The degrees of freedom were 3 (between groups) and 44 (within groups) for all the derivates that were analyzed. A1, auditory primary cortex; Pf, prefrontal cortex; Pp, posterior-parietal cortex; S1, somatosensory cortex; V1, visual primary cortex; r, right; l, left. The underlined derivates correspond to homotopic cortices.

from 0 for totally incoherent waveforms to 1 for maximal coherence; in order for two waveforms to be completely coherent at a particular frequency over a given time range, the phase shift between the waveforms must be constant and the amplitudes of the waves must have a constant ratio. We established that the random level of coherence was approximately 0.1 [10].

In order to normalize the data and conduct parametric statistical tests, we applied the Fisher *z'* transform to the gamma coherence values. Thereafter, the profile of the *z'*-coherence of the gamma band in 100s epochs for each pair of EEG recordings as well as the average of twelve epochs was analyzed, and the results were presented in a graphic form (Fig. 2). The *z'*-coherence of the gamma band for each pair of EEG channels was also averaged across behavioral states independently for each cat, and was expressed as the mean \pm standard error. The significance of the differences among behavioral states was evaluated with the ANOVA and Tamhane post hoc tests. The criterion used to reject the null hypotheses was *P* < 0.05.

3. Results

Examples of representative EEG recordings from cortical areas of the same and different hemispheres (right prefrontal, right posterior parietal and left posterior parietal) are shown in Fig. 1B and C. "Bursts" of 35–40 Hz oscillations can be readily observed in raw recordings during AW (Fig. 1B, arrows). On the contrary, they are difficult to perceive during REM sleep (Fig. 1C). After digital filtering of the recordings to include only the low gamma band, these oscillations were unmasked.

A strong coupling of EEG gamma oscillations recorded in different cortical sites, was present during AW (even between channels within different brain hemispheres), but not during REM sleep (Fig. 1B and C). However, during REM sleep filtered records of the right and left posterior parietal cortices (Ppr and Ppl, homotopic cortices) appeared to be more coupled than were recordings between them and the right prefrontal cortex (Pfr) (Fig. 1C).

The "coherence" algorithm was applied in order to conduct an in-depth analysis of different pairs of EEG signals that were simultaneously recorded during sleep and wakefulness. Examples of representative averaged low (30–45 Hz) gamma band z'-coherence profiles for intra-hemispheric, homotopic inter-hemispheric and heterotopic inter-hemispheric combinations of EEG recordings are shown in Fig. 2A–C. A narrow peak of coherence at 35–40 Hz is readily observed in all derivations during AW. Both for intra-hemispheric and heterotopic inter-hemispheric combinations, the z'-coherence was drastically reduced during REM sleep. For homotopic inter-hemispheric combinations, the z'-coherence was similar between NREM and REM sleep.

A visual form to represent the gamma power as well as the coupling among different cortices during AW is shown in Fig. 2D; note the presence of "gamma bursts" in the form of red "clouds" that were correlated in all the recordings. Compared to AW, during REM sleep, gamma power was reduced and the correlation of the "bursts" was almost absent. However, note that during REM sleep the dynamic of the gamma power have some similarities between left and right posterior parietal cortex. Similar pattern can be observed in the filtered recordings of Fig. 1C.

The averaged inter-hemispheric z'-coherence in the 35–40 Hz band across behavioral states for all combinations of cortical recordings is presented in Table 1. As it is shown in the representative examples of Figs. 1 and 2, during AW z'-coherence was significantly larger in both inter-hemispheric combinations (homotopic and heterotopic). During QW and NREM sleep, z'-coherence values were intermediate, and in some combinations they were larger during QW than during NREM sleep. z'-coherence decreased during REM sleep between pairs of non-correspondent (heterotopic) cortices of both hemispheres. In contrast, in most of the derivations

Table 2

Gamma (60-100 Hz) z'-coherence values during sleep and wakefulness

damma (ob 10012)2 concrete values daming scep and wakeraniess.								
Animal	Derivates	AW	QW	NREM	REM	Statistical significance	F	
C1	S1r-V1l	0.35 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.04 ± 0.01	+All vs. all	81	
	Ppr-V1l	0.46 ± 0.02	0.41 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.13 ± 0.01	+All vs. all	144	
C2	Pfr-Ppl	0.39 ± 0.05	0.24 ± 0.04	0.15 ± 0.01	0.08 ± 0.01	+AW vs. NREM and REM; +QW vs. REM; +NREM vs. REM	18	
	Ppr-Ppl	0.75 ± 0.05	0.39 ± 0.06	0.24 ± 0.03	0.14 ± 0.02	+AW vs. all; +QW vs. NREM and REM	36	
	V1r-V1l	1.69 ± 0.02	1.59 ± 0.01	1.51 ± 0.01	1.32 ± 0.03	+All vs. all	20	
	S1r-S11	0.80 ± 0.02	0.72 ± 0.01	0.73 ± 0.02	0.65 ± 0.03	+AW vs. NREM and REM; +QW vs. REM; +NREM vs. REM.	59	
C3	S1r-Ppl	0.21 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.02 ± 0.01	+AW vs. all; +QW vs. NREM and REM; +NREM vs. REM.	38	
	Ppr-Ppl	0.21 ± 0.04	0.34 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01	+AW vs. NREM and REM; +QW vs. REM	13	
C4	Pfr-Ppl	0.49 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.04 ± 0.01	+All vs. all	81	
	Ppr-Ppl	0.82 ± 0.01	0.56 ± 0.07	0.52 ± 0.03	0.18 ± 0.01	+AW vs. all; +QW vs. REM; +NREM vs. REM	45	

The values represent mean \pm standard error. +*P*<0.05, ANOVA with Tamhane tests. The degrees of freedom were 3 (between groups) and 44 (within groups) for all the derivates that were analyzed. A1, auditory primary cortex; Pf, prefrontal cortex; Pp, posterior-parietal cortex; S1, somatosensory cortex; V1, visual primary cortex; r, right; l, left. The underlined derivates correspond to homotopic cortices.

(4 out of 5), the z'-coherence between inter-hemispheric homotopic regions was similar during NREM and REM sleep.

Table 2 presents an analysis of the inter-hemispheric z'coherence for the 60–100 Hz frequency band. The z'-coherence during AW was larger than QW in most but not all derivations. During REM sleep, there was a significant decrease in z'-coherence for both inter-hemispheric and intra-hemispheric (homotopic and heterotopic) combinations.

4. Discussion

A gamma frequency band (30–45 Hz) in the EEG was originally described by Jasper and Andrews [20], and corresponds to the 40 Hz cognitive rhythm introduced by Das and Gastaut [11]. Several seminal studies then confirmed that this frequency band plays a critically important role in cognitive functions [22].

From a methodological point of view, our animal model have the advantage that by utilizing cortical surface electrodes, \approx 40 Hz oscillations can be clearly observed directly in the raw EEG recordings. Therefore, the result of the coherence analysis can also be confirmed by direct observation of the recordings; e.g., the tracing of Fig. 1 corresponds to the analysis, which is presented in Fig. 2.

In the present study, we demonstrated that the EEG interhemispheric coherence in the low gamma (30–45 Hz) frequency band is greater during AW than QW. In this regard, callosaldependent inter-hemispheric synchrony has been observed during visual stimulation in the cat [15]; and in humans, synchronized activity in \approx 40 Hz has been found to spread across the hemispheres during a visual recognition task [26]. Gamma-band rhythmogenesis has been systematically studied and is considered to be inextricably tied to the presence of perisomatic inhibition of cortical neurons that occurs due to GABA_A-receptor mediated inhibition [8]. However, the locally generated gamma rhythms can become coupled over surprisingly long distances, i.e. between hemispheres or remote regions of the cerebral cortex [8,17,23]. Interestingly, recent studies suggest that coherent gamma activity that is present in several subregions of the ascending reticular activating system may function to stabilize EEG gamma coherence during arousal [30].

Gamma coherence decreased to a lower level during NREM and REM sleep compared to QW. Although between homotopic interhemispheric areas z'-coherence was similar during NREM and REM sleep, between non-symmetrical inter-hemispheric areas, gamma coherence reached its nadir during REM sleep, as we found for low gamma coherence concerning intra-hemispheric regions [10].

Interestingly, low gamma coupling during REM sleep between homotopic cortices of both hemispheres is of intermediate strength compared with the lack of coupling for intra-hemispheric remote cortical areas and the high degree of local coupling (within a column or among closely cortical sites) that produce high values of gamma power [10,27]. In the cat, as in other mammals, there is a great number of callosal fibers that connect between homotopic interhemispheric cortical areas [24]; these connections may facilitate functional coupling between these cortical sites.

Research in oscillations of higher frequencies than 40 Hz (up to 600 Hz) has been undertaken recently [29], and the role of these higher frequency bands in cognitive function is still unknown. Nevertheless, we included an investigation of frequencies from 60 up to 100 Hz in the present study and in our previous paper [10]. We found that inter-hemispheric and intra-hemispheric high gamma coherence shares the same characteristics. Alert wakefulness produced only a small increase in coherence in some derivations compared to QW, and there was significant reduction of coherence during REM sleep for both inter-hemispheric combinations (homotopic and heterotopic cortices). It is interesting to note that even though high gamma coherence is reduced during REM sleep, the power or potency (and sign of local synchronization) in this

frequency band is similar than waking levels [10]. Unfortunately, the mechanisms that are responsible for these high frequency oscillations are still unclear [29]. However, it is important to note that the possibility that artifacts induced either by muscle or saccadic activity affected the data has been previously discussed and discarded [10].

In addition to the results of EEG coherence during REM sleep of Achermann and Borbely [2,3] (see Section 1), Leveille et al. demonstrated that although intra-hemispheric EEG coherence (up to beta band) during REM sleep is altered in autism, inter-hemispheric coherence did not change [21]. Inter-hemispheric communication during REM sleep was also assessed by means of paired-pulse transcranial magnetic stimulation [4,12]. The authors demonstrated a drastic decrease in callosal inhibition, and a significant increase in intra-cortical facilitation 10 and 15 ms after awakenings that followed REM sleep, suggesting that inter-hemispheric connectivity is modified during REM sleep. However, more studies are needed to understand the functional role of inter-hemispheric interaction during REM sleep.

5. Conclusions

Functional interactions among different cortical areas, including inter-hemispheric communication, are critical for cognitive functions [14]. In the present and a previous paper we demonstrated an uncoupling of gamma frequency activity during REM sleep between intra and inter-hemispheric cortices. This fact may contribute to the uniqueness of cognitive functions that take place during REM sleep, where most dreams occur [19].

Acknowledgments

The "Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas" (PEDECIBA), and the "Agencia Nacional de Investigacion e Innovación" (ANII), Uruguay, partially supported this work.

References

- F. Aboitiz, J. Montiel, One hundred million years of interhemispheric communication: the history of the corpus callosum, Braz. J. Med. Biol. Res. 36 (2003) 409–420.
- [2] P. Achermann, A.A. Borbely, Coherence analysis of the human sleep electroencephalogram, Neuroscience 85 (1998) 1195–1208.
- [3] P. Achermann, A.A. Borbely, Temporal evolution of coherence and power in the human sleep electroencephalogram, J. Sleep Res. 7 (Suppl. 1) (1998) 36–41.
- [4] M. Bertini, L. De Gennaro, M. Ferrara, G. Curcio, V. Romei, F. Fratello, R. Cristiani, F. Pauri, P.M. Rossini, Reduction of transcallosal inhibition upon awakening from REM sleep in humans as assessed by transcranial magnetic stimulation, Sleep 27 (2004) 875–882.
- [5] J.J. Bouyer, M.F. Montaron, A. Rougeul, Fast fronto-parietal rhythms during combined focused attentive behaviour and immobility in cat: cortical and thalamic localizations, Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 51 (1981) 244–252.
- [6] S.L. Bressler, R. Coppola, R. Nakamura, Episodic multiregional cortical coherence at multiple frequencies during visual task performance, Nature 366 (1993) 153–156.
- [7] T.H. Bullock, M.C. McClune, J.T. Enright, Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series, Neuroscience 121 (2003) 233–252.
- [8] G. Buzsaki, X.J. Wang, Mechanisms of gamma oscillations, Annu. Rev. Neurosci. 35 (2012) 203–225.
- [9] J.L. Cantero, M. Atienza, J.R. Madsen, R. Stickgold, Gamma EEG dynamics in neocortex and hippocampus during human wakefulness and sleep, Neuroimage 22 (2004) 1271–1280.
- [10] S. Castro, A. Falconi, M.H. Chase, P. Torterolo, Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep, Eur. J. Neurosci. 37 (2013) 1330–1339.
- [11] N.N. Das, H. Gastaut, Variations de l'activite electrique du cerveau, du coeur et des muscles squellettiques au cours de la meditation et de l'extase yoguique, Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 6 (1955) 211.
- [12] L. De Gennaro, M. Bertini, M. Ferrara, G. Curcio, R. Cristiani, V. Romei, F. Fratello, F. Pauri, P.M. Rossini, Intracortical inhibition and facilitation upon awakening from different sleep stages: a transcranial magnetic stimulation study, Eur. J. Neurosci. 19 (2004) 3099–3104.

- [13] K.W. Doron, D.S. Bassett, M.S. Gazzaniga, Dynamic network structure of interhemispheric coordination, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109 (2012) 18661–18668.
- [14] G.M. Edelman, G. Tononi, A Universe of Consciousness, Basic Books, New York,
- 2000. [15] A.K. Engel, P. Konig, A.K. Kreiter, W. Singer, Interhemispheric synchroniza-
- tion of oscillatory neuronal responses in cat visual cortex, Science 252 (1991) 1177–1179.
- [16] M.S. Gazzaniga, Shifting gears: seeking new approaches for mind/brain mechanisms, Annu. Rev. Psychol. 64 (2012) 1–20.
- [17] G.G. Gregoriou, S.J. Gotts, H. Zhou, K. Desimone, High-frequency, long-range coupling between prefrontal and visual cortex during attention, Science 324 (2009) 1207–1210.
- [18] L.B. Hinkley, E.J. Marco, A.M. Findlay, S. Honma, R.J. Jeremy, Z. Strominger, P. Bukshpun, M. Wakahiro, W.S. Brown, L.K. Paul, A.J. Barkovich, P. Mukherjee, S.S. Nagarajan, E.H. Sherr, The role of corpus callosum development in functional connectivity and cognitive processing, PLOS ONE 7 (2012) e39804.
- [19] J.A. Hobson, REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness, Nat. Rev. Neurosci. 10 (2009) 803–813.
- [20] H.H. Jasper, H.L. Andrews, Brain potentials and voluntary muscle activity in man, J. Neurophysiol. 1 (1938) 87–100.
- [21] C. Leveille, E.B. Barbeau, C. Bolduc, E. Limoges, C. Berthiaume, E. Chevrier, L. Mottron, R. Godbout, Enhanced connectivity between visual cortex and other regions of the brain in autism: a REM sleep EEG coherence study, Autism Res. 3 (2010) 280–285.
- [22] R. Llinas, U. Ribary, D. Contreras, C. Pedroarena, The neuronal basis for consciousness, Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci. 353 (1998) 1841–1849.

- [23] L. Melloni, C. Molina, M. Pena, D. Torres, W. Singer, E. Rodriguez, Synchronization of neural activity across cortical areas correlates with conscious perception, J. Neurosci. 27 (2007) 2858–2865.
- [24] H. Nakamura, T. Kanaseki, Topography of the corpus callosum in the cat, Brain Res. 485 (1989) 171–175.
- [25] E. Perez-Garci, Y. del-Rio-Portilla, M.A. Guevara, C. Arce, M. Corsi-Cabrera, Paradoxical sleep is characterized by uncoupled gamma activity between frontal and perceptual cortical regions, Sleep 24 (2001) 118–126.
- [26] E. Rodriguez, N. George, J.P. Lachaux, J. Martinerie, B. Renault, F.J. Varela, Perception's shadow: long-distance synchronization of human brain activity, Nature 397 (1999) 430–433.
- [27] M. Steriade, F. Amzica, D. Contreras, Synchronization of fast (30–40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation, J. Neurosci. 16 (1996) 392–417.
- [28] P.J. Uhlhaas, G. Pipa, B. Lima, L. Melloni, S. Neuenschwander, D. Nikolic, W. Singer, Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status, Front. Integr. Neurosci. 3 (2009) 17.
- [29] P.J. Uhlhaas, G. Pipa, S. Neuenschwander, M. Wibral, W. Singer, A new look at gamma? High- (>60 Hz) gamma-band activity in cortical networks: function, mechanisms and impairment, Prog. Biophys. Mol. Biol. 105 (2011) 14–28.
- [30] F.J. Urbano, N. Kezunovic, J. Hyde, C. Simon, P. Beck, E. Garcia-Rill, Gamma band activity in the reticular activating system, Front. Neurol. 3 (2012) 6.
- [31] U. Voss, R. Holzmann, I. Tuin, J.A. Hobson, Lucid dreaming: a state of consciousness with features of both waking and non-lucid dreaming, Sleep 32 (2009) 1191–1200.

11.4. Artículo publicado: Coherent neocortical gamma oscillations decrease during REM sleep in the rat.

Contents lists available at ScienceDirect

Behavioural Brain Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbr

Research report

Coherent neocortical gamma oscillations decrease during REM sleep in the rat



^a Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, General Flores 2125,

11800 Montevideo, Uruguay

^b WebSciences International, 1251 Westwood Blvd., Los Angeles, CA 90024, USA

^c UCLA School of Medicine, Los Angeles, CA 90095, USA

HIGHLIGHTS

• The electroencephalogram of adult rats was recorded during sleep and wakefulness.

- The intra and inter-hemispheric coherence of the EEG gamma band was analyzed.
- The coherence was larger in W and almost absent during REM sleep.

ARTICLE INFO

Article history: Received 8 October 2014 Received in revised form 19 December 2014 Accepted 23 December 2014 Available online 31 December 2014

Keywords: Cortex Consciousness EEG Synchronization Coherence

ABSTRACT

Higher cognitive functions require the integration and coordination of large populations of neurons in cortical and subcortical regions. Oscillations in the high frequency band (30–100 Hz) of the electroencephalogram (EEG), that have been postulated to be a product of this interaction, are involved in the binding of spatially separated but temporally correlated neural events, which results in a unified perceptual experience. The extent of this functional connectivity can be examined by means of the mathematical algorithm called "coherence", which is correlated with the "strength" of functional interactions between cortical areas. As a continuation of previous studies in the cat [6,7], the present study was conducted to analyze EEG coherence in the gamma band of the rat during wakefulness (W), non-REM (NREM) sleep and REM sleep.

Rats were implanted with electrodes in different cortical areas to record EEG activity, and the magnitude squared coherence values within the gamma frequency band of EEG (30–48 and 52–100 Hz) were determined.

Coherence between all cortical regions in the low and high gamma frequency bands was greater during W compared with sleep. Remarkably, EEG coherence in the low and high gamma bands was smallest during REM sleep.

We conclude that high frequency interactions between cortical areas are radically different during sleep and wakefulness in the rat. Since this feature is conserved in other mammals, including humans, we suggest that the uncoupling of gamma frequency activity during REM sleep is a defining trait of REM sleep in mammals.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Electroencephalographic (EEG) oscillations in the gamma frequency $(30\text{--}100\,\text{Hz})$ band are involved in the integration or

http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.050 0166-4328/© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved. binding of spatially separated but temporally correlated neural events [1–3]. An increase in gamma power typically appears during states/behaviors that are characterized by the active cognitive processing of external percepts or internally generated thoughts and images in humans and during alert wakefulness in animals [4–7].

The degree of EEG coherence between two cortical regions is correlated with the strength of the functional interconnections







^{*} Corresponding author. Tel.: +598 2924 34 14x3234. E-mail address: ptortero@fmed.edu.uy (P. Torterolo).

that occur between them [1,2,8,9]. Recently, Siegel et al. (2012) have proposed that frequency-specific correlated oscillations in distributed cortical networks provide indices, or 'fingerprints', of the network interactions that underlie cognitive processes [10].

Gamma coherence between different brain areas, which is greatest during wakefulness (W) has been viewed as a possible neural correlate of consciousness [11]. In effect, coherence in the gamma frequency band decreases during narcosis (unconsciousness) induced by anesthesia [12,13].

During deep non-REM (NREM) sleep there is an absence, or at least a strong reduction in cognitive functions. In contrast, dreams that occur more prominently during rapid eye movement (REM) sleep, are considered a special kind of cognitive activity or proto-consciousness [14]. Recently, we demonstrated in the cat that there is high level of neocortical intra and interhemispheric gamma coherence during alert wakefulness, it decreases during quiet W and NREM sleep, and is almost absent during REM sleep [6,7].

In the present report, we evaluated the extent of EEG 30–100 Hz coherence between intra and interhemispheric neocortical activity during naturally occurring sleep and W in the rat.

2. Materials and methods

2.1. Experimental animals

Twelve adult male Wistar rats (300-350 g) were used in this study. The animals were determined to be in good health by the Institutional Animal Care Facility. All of the animals were maintained on a 12:12-h light-dark cycle under controlled temperature $(21-24 \circ C)$ conditions with free access to food and water. All of the experimental procedures were conducted in accord with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8th edition, National Academy Press, Washington, DC, 2010) and approved by the Institutional Animal Care Commission (protocol No. 071140-001931-12, Facultad de Medicina, Universidad de la República). Adequate measures were taken to minimize pain, discomfort or stress of the animals. In addition, all efforts were made in order to use the minimal number of animals necessary to produce reliable scientific data.

2.2. Surgical procedures

The surgical procedures employed were similar to those in our previous studies [15,16]. The animals were chronically implanted with electrodes to monitor the states of sleep and W. Anesthesia was induced with a mixture of ketamine-xylazine (90 mg/kg; 5 mg/kg i.p. respectively). The animal's head was positioned in a stereotaxic frame and the skull was exposed. In order to record the EEG, stainless steel screw electrodes were placed in the calvarium, overlying the parietal and occipital cortices and the cerebellum (Fig. 1). Bipolar electrodes were inserted into the neck muscle in order to record the electromyogram (EMG). The electrodes were connected to a plug that was bonded to the skull with acrylic cement.

At the end of the surgical procedures, an analgesic was administered. Incision margins were kept clean and a topical antibiotic was administered on a daily basis. After the animals had recovered from the preceding surgical procedures, they were adapted to the recording environment for a period of at least one week.

2.3. Experimental sessions

Experimental sessions of 6 h in duration were conducted during the light period, between 12 A.M. and 6 P.M, in a temperature controlled (21-24 °C) and sound attenuated chamber. All animals had free access to water and food. During these sessions (as well



Fig. 1. Position of recording electrodes. The figure presents a summary of the position of the recording electrodes on the surface of the primary somatosensory and primary visual cortices (according to Ref. [31]). The electrodes were referred to a common electrode that was located over the cerebellum (Cer). G1–G3, are groups of animals with different electrode locations (four animals per group). S1, somatosensory primary cortex; V1, visual primary cortex; r, right; l, left.

as during the adaptation sessions), the animals were able to move freely within the confines of the recording-chamber.

EEG and EMG of each rat were recorded daily for a period of approximately 2 weeks in order to obtain a complete data set. The activity of two cortical areas was recorded simultaneously with monopolar electrodes. A common electrode reference montage was placed on the cerebellar surface; this montage is critical for the analysis of coherence [17–21]. For each pair of recordings, data were obtained during four recording sessions, and for every combination of electrodes, in three groups (G1–G3) of 4 rats (Fig. 1).

Bioelectric signals were amplified (×1000), filtered (0.1-200 Hz), sampled (512 Hz, 16 bits) and stored in a PC using Spike 2 software (Cambridge Electronic Design). Data were obtained during spontaneously occurring W, NREM and REM sleep. The presence of low voltage fast waves in the parietal cortex, a mixed theta rhythm (4-7 Hz) in the occipital cortex and relatively high electromyographic activity were used to identify W. Light and deep NREM sleep were determined, but only epochs of established periods of deep NREM sleep were utilized for coherence analysis. Deep NREM sleep was identified by the presence of continuous high amplitude slow (0.5-4Hz) frontal and occipital waves and sleep spindles (9–15 Hz) combined with a reduced EMG activity. REM sleep was identified by the occurrence of low voltage fast parietal waves, a regular theta rhythm in the occipital cortex, and the absence of EMG activity except for occasional muscular twitches [15].

2.4. Data analysis

Sleep and waking states were determined in epochs of 10 s [15]. In order to obtain power spectral and coherence values between a pair of EEG channels, we used procedures that we have previously employed [6,7]. Artifacts were detected in the raw recording and in the spectrogram (with a 0.5 s resolution); artifacts produced a general increase in power and were usually associated with movements. Twelve independent artifact-free periods of 100 s were selected and examined during each behavioral state (1200 s for each behavioral state per rat).

For each 100 s period, the Magnitude Squared Coherence was determined as follows: $\operatorname{coh}_{ab}(f) = [\sum \operatorname{csd}_{ab}(f)]^2 / [\sum \operatorname{psd}_b(f)] \operatorname{psd}_b(f)]$, where psd is the power spectral density and a and b are the waves that are analyzed. csd is the cross spectra density, or the Fourier transform of the cross covariance function, which provides a statement of how common activity between two processes is distributed across frequencies. Coherence between two waveforms is a function of frequency and ranges from 0 for totally incoherent waveforms to 1 for maximal coherence. In order for two waveforms to be completely coherent at a particular frequency over a

given time range, the phase shift between the waveforms must be constant and the amplitudes of the waves must have a constant ratio.

We obtained power spectrum and the magnitude squared coherence using the Spike 2 script COHER 1S (Cambridge Electronic Design). By employing this method, we were able to analyze the coherence between two EEG channels that were recorded simultaneously during 100 s periods. This analysis period was divided into 100 time-blocks with a sampling rate of 512 Hz, a bin size of 1024 samples (512 for each channel) and a resolution of 0.5 Hz. Analyses of serial, non-overlapping, 10 s epochs were also used to determine the temporal dynamic of the coherence (Figs. 5 and 6).

We concentrated on examining the coherence of the EEG in the gamma frequency band (30–48 and 52–100 Hz); low and high gamma bands were also analyzed in our previous studies in cats, where they exhibited differences in relation to attentive behaviors [6,7]. Fifty Hz electrical noise was also avoided with this partition. In order to eliminate the possibility that gamma activity and coherence were produced by extra-cerebral potentials, we performed the same procedures and analysis than in our previous studies (see [6,7] for details).

In order to normalize the data and evaluate them by means of parametric statistical tests, we applied the Fisher z' transform to the gamma coherence values. The z'-coherence of the gamma band for each pair of EEG channels was averaged across behavioral states. z'-Coherence was expressed as the mean \pm standard error. The significance of the differences among behavioral states, cortical sites and interactions were evaluated with two-ways ANOVA and Tukey tests. The z'-coherence across behavioral states for the intra or interhemispheric combination of electrodes was also evaluated by one-way ANOVA and Tamhane tests. The gamma power for the different cortices among behavioral states was also evaluated with





Fig. 2. Gamma oscillations during wakefulness. (A) Simultaneous raw and filtered (35–48 and 52–100 Hz) recordings from the right somatosensory primary (S1r) and right visual primary (V1r) cortices during wakefulness. Gamma oscillations, which are readily observed in the raw recordings, are highlighted after filtering. An arrow signals a "burst" of gamma oscillations. Calibration bars: 200 ms and 200 µV for raw recordings and 100 µV for filtered recordings. (B) Autocorrelation function (ACF) and cross-correlation functions (CCF) from filtered (35–48 Hz and 52–100 Hz) periods of 100 s of simultaneous EEG recordings from S1r and V1r are shown during W. The ACF of both channels are superimposed. (C) Linear regression between the amplitudes of S1r and V1r was performed on representative filtered recordings (30–48 and 52–100 Hz) during 20 s of wakefulness. The determination coefficients and regression line equations are shown.

one-way ANOVA and Tamhane tests. The criterion used to reject the null hypotheses was p < 0.05.

Selected recordings were filtered, with a band pass of 30–48 and 52–100 Hz, using Spike 2 digital finite impulse response filters. The amplitude of simultaneously recorded pairs of filtered EEG signals was also analyzed by means of the Pearson correlation. Autocorrelations and cross-correlations functions were also computed.

3. Results

3.1. Raw and filtered (30–48 and 52–100 Hz) EEG recordings during wakefulness and REM sleep

The EEG fluctuates between a desynchronized pattern of activity in the presence of theta rhythm during W and REM sleep and synchronized slow wave activity during NREM sleep. Although EEG activity during W and REM sleep is similar, there are subtle differences. Representative EEG recordings during W and REM sleep are shown in Figs. 2 and 3, respectively. Oscillations of approximately 30–48 Hz can be observed in raw recordings during W (Fig. 2); these electrographic events are not clear during REM sleep (Fig. 3).

Gamma oscillations 30–48 or 52–100 Hz, were unmasked after digital filtering of the recordings. During W, gamma oscillations at 30–48 Hz exhibited some burst of activity with spindle morphology (see example in Fig. 2, arrow); on the other hand, 52–100 Hz oscillations were irregular without a clear pattern. In spite of this, the autocorrelation functions show the presence of an oscillatory pattern of gamma activity (for 30–48 and 52–100 Hz) both during W and REM (Figs. 2 and 3).

Fig. 2 also illustrates a representative example of the coupling of EEG signals recorded from different cortical sites of the same hemisphere during W. Coupling was highlighted when the amplitudes of the signals between pairs of simultaneous EEG recordings were



Fig. 3. Gamma oscillations during REM sleep. (A) Simultaneous raw and filtered (35-48 and 52-100 Hz) recordings from the right somatosensory primary (S1r) and right visual primary (V1r) cortices during REM sleep. The amplitude and duration of gamma oscillations decreased compared to wakefulness (see Fig. 2). Calibration bars: 200 ms and 200 μ V for raw recordings and 100 μ V for filtered recordings. (B) Autocorrelation (ACF) and cross-correlation functions (CCF) from filtered (35-48 Hz and 52-100 Hz) periods of 100 s of simultaneous EEG recordings from S1r and V1r are shown during REM sleep. The ACF of both channels are superimposed. (C) Linear regression between the amplitudes of S1r and V1r were analyzed from representative filtered recordings (30-48 and 52-100 Hz) during 20 s of REM sleep. The determination coefficients and regression line equations are shown.

correlated; the cross-correlation function also shows that both waves are strongly coupled. During REM sleep, the intrahemispheric EEG coupling is reduced, which can be observed in the filtered recordings, the correlation and the cross-correlation histogram exhibited in Fig. 3.

3.2. Coherent 30–48 and 52–100 Hz activity is reduced during REM sleep

In addition to the fact that EEG coupling was minimal during REM sleep when analyzed by filtered recordings and correlation methods, we utilized the magnitude-squared coherence for an in-depth analysis of different pairs of EEG signals that were simultaneously recorded during W and sleep.

As a first step, by means of the two-ways ANOVA we analyzed z'coherence using behavioral states, and intra- or interhemispheric combination of electrodes (derivates) as factors. The analyses revealed a significant effect of behavioral states (30–48 Hz, $F_{2,423}$ = 47.28, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{2,423}$ = 232.2, p < 0.0001), derivates (30–48 Hz, $F_{2,423}$ = 335.5, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{2,423}$ = 242.4, p < 0.0001) and interactions (30–48 Hz, $F_{4,423}$ = 8.508, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{4,423}$ = 4.497, p = 0.001). Tukey post hoc analyses showed that, disregarding the derivates, 30–48 Hz z'coherence during REM sleep was different than during the other behavioral states (p < 0.001). In addition, disregarding behavioral states, 30–48 Hz z'-coherence in the heterotopic interhemispheric combination was different than in the others derivates (p < 0.001). All of the combination (behavioral states and derivates) were statistically significant (p < 0.001) for 52–100 Hz z'-coherence. As a second step, we analyzed the z'-coherence in each combination of electrodes across behavioral states using one-way ANOVA. There were significant differences for the intrahemispheric (30–48 Hz, $F_{2,141}$ = 27.81, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{2,141}$ = 94.39, p < 0.0001); the interhemispheric homotopic (30–48 Hz, $F_{2,141}$ = 8.501, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{2,141}$ = 58.95, p < 0.0001) and interhemispheric heterotopic derivates (30–48 Hz, $F_{2,141}$ = 32.52, p < 0.0001; 52–100 Hz, $F_{2,141}$ = 95.68, p < 0.0001).

In Fig. 4 is readily observed that, for all the derivates, the minimum values of the z'-coherence for both 30–48 and 52–100 Hz were during REM sleep. For the 30–48 Hz band, in the intrahemispheric derivates, maximum values were present during W. In interhemispheric heterotopic combination, the maximum value of z'-coherence was during NREM sleep. The z'-coherence for 52–100 Hz band was significantly greater during W both for intra and interhemispheric derivates (Fig. 4). The schematic presented in Fig. 4B summarizes the gamma z'-coherence during W and sleep.

For an in-depth analysis of the transitions (t) into and from REM sleep, we analyzed the mean gamma z'-coherence during t (Fig. 5). REM sleep onset was accompanied by a decrease in z'-coherence that was maintained at a low level during this state (Fig. 5A). In contrast, during the transition from REM sleep either to W or NREM sleep, z'-coherence increased (Fig. 5B).

An example of the dynamic evolution of EEG coherence in gamma (30-48 and 52-100 Hz) across behavioral states is shown in Fig. 6 for the intrahemispheric combination of electrodes. While the maximal values of z'-coherence were present during W, the minimal values occurred during REM sleep episodes (Fig. 6).



Fig. 4. Gamma band z'-coherence during wakefulness and sleep. (A) Mean z'-coherence (30-48 and 52-100 Hz) of intrahemispheric (G1, S1r–V1r), interhemispheric homotopic (G2, S11–S1r) and interhemispheric heterotopic (G3, S1r–V1l) combination of electrodes. Data were obtained from 4 rats per group; 12 windows of 100 s per rat for each behavioral state. The values represent the mean ± standard error. Statistical significance: $^{+}P<0.05$ and $^{+}P<0.0001$; ANOVA and Tamhane tests. (B) Summary of the gamma band EEG z'-coherence. The lines represent derivates and the color represents the level of z'-coherence. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



Fig. 5. *z'*-Coherence during REM sleep transitions. (A) The graphs depict the mean *z'*-coherence ± standard error (for 30–48 and 52–100 Hz) of 25 transitions of one rat of the G1 group (S1r–V1r, intrahemispheric coherence). (*t*) indicates the onset of REM sleep. (B) Waking from REM sleep. The graphs show the mean *z'*-coherence ± standard deviation (for 30–48 and 52–100 Hz) of 25 transitions of one rat of the G1 group (S1r–V1r, intrahemispheric coherence). (*t*) indicates the onset of REM sleep. (B) Waking from REM sleep. The graphs show the mean *z'*-coherence ± standard deviation (for 30–48 and 52–100 Hz) of 25 transitions of one rat of the G1 group (S1r–V1r, intrahemispheric coherence). (*t*) indicates the end of the REM sleep episodes are symbolized in green; REM episodes in red. The states that followed the REM sleep episodes are indicated in black (these epochs were mainly wakefulness but NREM sleep episodes also followed REM sleep). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



Fig. 6. Dynamic of the gamma coherence during wakefulness and sleep. (A) The spectrogram (0.1–100 Hz) of primary visual (V1r) and primary somatosensory (S1r) cortical recordings and the accompanying hypnogram are shown. During W and REM sleep the theta activity (4–9 Hz) in the spectrograms can be readily observed. Gamma activity is larger during W. During NREM sleep, delta activity (0.5–4 Hz) is more prominent and there are intermittent episodes of sigma activity (9–15 Hz), which correspond to the presence of sleep spindles. (B) The z'-coherence for both gamma bands (30–48 and 52–100 Hz) was analyzed in 10-s epochs. The maximum values of z'-coherence occurred during W; z'-coherence decreased to an intermediate level during NREM sleep and minimum values were present during the periods of REM sleep (segments in red). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



Fig. 7. Gamma power during wakefulness and sleep. Mean gamma band power of the EEG recorded from 3 rats of the intra-hemispheric S1r and V1r cortices of group G1 (see Fig. 1) during wakefulness (W), NREM and REM sleep. The values represent mean \pm standard error. Statistical significance: ⁺*P*<0.05 and ^{*}*P*<0.0001, ANOVA with Tamhane tests.

3.3. Gamma power during wakefulness and sleep

The gamma power was different across behavioral states for S1 (30–48 Hz, $F_{2,105}$ = 7.941, p = 0.001; 52–100 Hz, $F_{2,105}$ = 49.37, p < 0.0001) and V1 cortices (30–48 Hz, $F_{2,105}$ = 6.092, p = 0.003; 52–100 Hz, $F_{2,105}$ = 45.06, p < 0.0001). Fig. 7 shows that gamma power was significantly greater during W than during REM sleep for 52–100 Hz in S1 and V1 cortices, and for 30–48 Hz in S1 cortex. However, in contrast to z'-coherence values, the minimum power values occurred during NREM sleep.

4. Discussion

In the present study, we demonstrated in rats that the EEG intrahemispheric and interhemispheric coherence in the gamma (30–48 and 52–100 Hz) frequency band is smaller during REM sleep that during W or NREM sleep. Therefore, these data suggest that during REM sleep, high-frequency functional interaction between different cortical regions is lower compared with other behavioral states.

4.1. Gamma coherence during wakefulness

It is well established that gamma power and gamma coherence increase during W in cats and humans, mainly for intrahemispheric combination of electrodes [4,6,7]. In the cat, gamma band coherence at \approx 40 Hz increases during alert W; this fact that can be clearly observed in raw recordings [6,7]. In the present study, the largest gamma power and intrahemispheric coherence was present during W states, but the differences depending on waking conditions were not studied. In this regards, Maloney et al. (1998) showed that the largest values of gamma power occur during periods of active W [22].

4.2. Gamma coherence during REM sleep

In the present report, we demonstrated in rats that gamma intra and interhemispheric coherence reaches a nadir during REM sleep. This result accords with the results of our previous studies in the cat [6,7], where gamma coherence was almost absent during REM sleep in intrahemispheric and interhemispheric derivates. The demonstration that there is a radical reduction in gamma coherence between different cortical regions during REM sleep does not contradict the findings of Steriade el al. (1996), which showed an increase in local coupling (within a column or among closely cortical sites) during activated states [23]. In fact, as shown in Fig. 7, gamma power (as a reflection of local gamma synchronization) during REM sleep was close to W, and larger than during NREM sleep. Therefore, although gamma activity was large during REM sleep, the coupling of gamma oscillations between different cortical areas (reflected by gamma coherence) was minimal.

In humans, an early report showed that during REM sleep magneto-EEG 40-Hz oscillations were similar in distribution, phase and amplitude to those observed during W. In contrast, Perez-Garci et al. (2001) reported that there is a decrease in correlation spectra in 2-s epochs of fast (27-48Hz) frequencies restricted to intrahemispheric frontal-perceptual cortical regions during REM sleep. On the contrary, the gamma synchrony between homologous cortical regions of both hemispheres increases during REM sleep in humans [24,25]. Cantero et al. (2004) employed human intracranial EEG recordings for coherence analyses during sleep, which allowed a much finer spatial scale than scalp-recorded signals. They found that local (within neocortical regions) and long-range (between intra-hemispheric neocortical regions) gamma (35-58 Hz) coherence was significantly greater during wakefulness than during sleep. However, no differences in coherence were found between NREM and REM sleep. Furthermore, functional gamma-range coupling between the neocortex and hippocampus was observed during wakefulness, but not during REM sleep. Finally, Voss et al. (2009) demonstrated that gamma coherence decreases during REM sleep compared with wakefulness; during lucid dreaming, coherence values are intermediate between W and REM sleep.

As with other EEG rhythms, gamma oscillations remains remarkable conserved in mammals irrespective of brain size [26]. The decrease in gamma coherence during REM sleep in rats (present report), in cats [6,7] and in humans [24,27,28], indicates that during this behavioral state there is a decrease in the capacity for integration among different cortices within high frequency ranges.

A recent study demonstrated that electrical stimulation of the prefrontal cortex in the lower gamma band (\approx 40 Hz) during REM sleep influences ongoing brain activity and induces self-reflective awareness (a feature of W) in dreams (*i.e.*, lucid dreams), while other stimulation frequencies were not effective [29]. Thus, the data support the concept that synchronous oscillations of \approx 40 Hz are an electrophysiological pattern of activity that is indicative of attentive wakefulness. On the contrary, the reduction of gamma coherence during REM sleep [6,7,24,27,28], may underlie the unique pattern of REM sleep mentation, *i.e.*, dreams [14,30].

5. Conclusions

During REM sleep in the rat, despite an activated EEG, there is an uncoupling of the gamma frequency activities between neocortical sites. Therefore, functional interactions among different cortical areas, which are critical for cognitive functions, are different during W and REM sleep. Since this feature is conserved in other mammals, including humans, we consider that this uncoupling of gamma frequency activity during REM sleep is a defining trait of REM sleep in mammals.

Acknowledgments

We are grateful to Dr. Horacio Igarzabal for his assistance in the experimental procedures. This study was partially supported by the "Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas" (PEDECIBA) and the "Agencia Nacional de Investigacion e Innovación" (ANII), Uruguay.

References

- Rieder MK, Rahm B, Williams JD, Kaiser J. Human gamma-band activity and behavior. Int J Psychophysiol 2010;79:39–48.
- [2] Uhlhaas PJ, Pipa G, Lima B, Melloni L, Neuenschwander S, Nikolic D, et al. Neural synchrony in cortical networks: history, concept and current status. Front Integr Neurosci 2009;3:17.
- [3] Uhlhaas PJ, Pipa G, Neuenschwander S, Wibral M, Singer W. A new look at gamma? High- (>60Hz) gamma-band activity in cortical networks: function, mechanisms and impairment. Prog Biophys Mol Biol 2011;105: 14–28.
- [4] Llinas R, Ribary U. Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90:2078-81.
- [5] Tiitinen H, Sinkkonen J, Reinikainen K, Alho K, Lavikainen J, Naatanen R. Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans. Nature 1993;364:59–60.
- [6] Castro S, Falconi A, Chase MH, Torterolo P. Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. Eur J Neurosci 2013;37: 1330–9.
- [7] Castro S, Cavelli M, Vollono P, Chase MH, Falconi A, Torterolo P. Interhemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness. Neurosci Lett 2014;578:197–202.
- [8] Bullock TH, McClune MC, Enright JT. Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series. Neuroscience 2003;121:233–52.
- [9] Edelman GM, Tononi G. A universe of consciousness. New York: Basic Books; 2000.
- [10] Siegel M, Donner TH, Engel AK. Spectral fingerprints of large-scale neuronal interactions. Nat Rev Neurosci 2012;13:121–34.
- [11] Llinas R, Ribary U, Contreras D, Pedroarena C. The neuronal basis for consciousness. Philos Trans R Soc Lond B: Biol Sci 1998;353:1841–9.
- [12] John ER. The neurophysics of consciousness. Brain Res Brain Res Rev 2002;39:1–28.
- [13] Mashour GA. Integrating the science of consciousness and anesthesia. Anesth Analg 2006;103:975–82.
- [14] Hobson JA. REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. Nat Rev Neurosci 2009;10:803-13.
- [15] Benedetto L, Rodriguez-Servetti Z, Lagos P, D'Almeida V, Monti JM, Torterolo P. Microinjection of melanin concentrating hormone into the lateral preoptic area promotes non-REM sleep in the rat. Peptides 2013;39C:11–5.
- [16] Lagos P, Torterolo P, Jantos H, Chase MH, Monti JM. Effects on sleep of melaninconcentrating hormone microinjections into the dorsal raphe nucleus. Brain Res 2009;1265:103–10.

- [17] Bullock TH, Buzsaki G, McClune MC. Coherence of compound field potentials reveals discontinuities in the CA1-subiculum of the hippocampus in freelymoving rats. Neuroscience 1990;38:609–19.
- [18] Bullock TH. Signals and signs in the nervous system: the dynamic anatomy of electrical activity is probably information-rich. Proc Natl Acad Sci U S A 1997;94:1–6.
- [19] Bullock TH, McClune MC, Achimowicz JZ, Iragui-Madoz VJ, Duckrow RB, Spencer SS. EEG coherence has structure in the millimeter domain: subdural and hippocampal recordings from epileptic patients. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1995;95:161–77.
- [20] Cantero JL, Atienza M, Salas RM. Clinical value of EEG coherence as electrophysiological index of cortico-cortical connections during sleep. Rev Neurol 2000;31:442–54.
- [21] Nunez PL, Srinivasan R, Westdorp AF, Wijesinghe RS, Tucker DM, Silberstein RB, et al. EEG coherency. I: Statistics, reference electrode, volume conduction, Laplacians, cortical imaging, and interpretation at multiple scales. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1997;103:499–515.
- [22] Maloney KJ, Cape EG, Gotman J, Jones BE. High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. Neuroscience 1997;76:541–55.
- [23] Steriade M, Amzica F, Contreras D. Synchronization of fast (30–40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation. J Neurosci 1996;16:392–417.
- [24] Perez-Garci E, del-Rio-Portilla Y, Guevara MA, Arce C, Corsi-Cabrera M. Paradoxical sleep is characterized by uncoupled gamma activity between frontal and perceptual cortical regions. Sleep 2001;24:118–26.
- [25] Corsi-Cabrera M, Sifuentes-Ortega R, Rosales-Lagarde A, Rojas-Ramos OA, Del Rio-Portilla Y. Enhanced synchronization of gamma activity between frontal lobes during REM sleep as a function of REM sleep deprivation in man. Exp Brain Res 2014;232:1497–508.
- [26] Buzsaki G, Logothetis N, Singer W. Scaling brain size, keeping timing: evolutionary preservation of brain rhythms. Neuron 2013;80:751–64.
- [27] Cantero JL, Atienza M, Madsen JR, Stickgold R. Gamma EEG dynamics in neocortex and hippocampus during human wakefulness and sleep. Neuroimage 2004;22:1271–80.
- [28] Voss U, Holzmann R, Tuin I, Hobson JA. Lucid dreaming: a state of consciousness with features of both waking and non-lucid dreaming. Sleep 2009;32:1191–200.
- [29] Voss U, Holzmann R, Hobson A, Paulus W, Koppehele-Gossel J, Klimke A, et al. Induction of self awareness in dreams through frontal low current stimulation of gamma activity. Nat Neurosci 2014;17:810–2.
- [30] Nir Y, Tononi G. Dreaming and the brain: from phenomenology to neurophysiology. Trends Cogn Sci 2010;14:88–100.
- [31] Paxinos G, Watson C. The rat brain. New York: Academic Press; 2005.

12. Referencias bibliográficas.

- Adrian, E.D., 1942. Olfactory reactions in the brain of the hedgehog. The Journal of physiology 100, 459–73.
- Benedetto, L., Rodriguez-Servetti, Z., Lagos, P., D'Almeida, V., Monti, J.M., Torterolo, P., 2013. Microinjection of melanin concentrating hormone into the lateral preoptic area promotes non-REM sleep in the rat. Peptides 39, 11–5.
- Benson, K.L., Zarcone, V.P., 1985. Testing the REM sleep phasic event intrusion hypothesis of schizophrenia. Psychiatry research 15, 163–73.
- Boeve, B.F., Silber, M.H., Saper, C.B., Ferman, T.J., Dickson, D.W., Parisi, J.E., Benarroch, E.E., Ahlskog, J.E., Smith, G.E., Caselli, R.C., Tippman-Peikert, M., Olson, E.J., Lin, S.-C., Young, T., Wszolek, Z., Schenck, C.H., Mahowald, M.W., Castillo, P.R., Del Tredici, K., Braak, H., 2007. Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. Brain : a journal of neurology 130, 2770–88.
- Bouyer, J.J., Montaron, M.F., Rougeul, A., 1981. Fast fronto-parietal rhythms during combined focused attentive behaviour and immobility in cat: cortical and thalamic localizations. Electroencephalography and clinical neurophysiology 51, 244–52.
- Braun, A.R., Balkin, T.J., Wesenten, N.J., Carson, R.E., Varga, M., Baldwin, P., Selbie, S., Belenky, G., Herscovitch, P., 1997. Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. An H2(15)O PET study. Brain : a journal of neurology 120 Pt 7, 1173–97.
- Bressler, S.L., Coppola, R., Nakamura, R., 1993. Episodic multiregional cortical coherence at multiple frequencies during visual task performance. Nature 366, 153–6.
- Buhl, D.L., Harris, K.D., Hormuzdi, S.G., Monyer, H., Buzsáki, G., 2003. Selective impairment of hippocampal gamma oscillations in connexin-36 knock-out mouse in vivo. The Journal of neuroscience 23, 1013–1018.
- Bullock, T.H., 1997. Signals and signs in the nervous system : The dynamic anatomy of electrical activity is probably information-rich 94, 14–19.
- Bullock, T.H., McClune, M.C., Achimowicz, J.Z., Iragui-Madoz, V.J., Duckrow, R.B., Spencer, S.S., 1995. Temporal fluctuations in coherence of brain waves. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92, 11568–72.
- Bullock, T.H., Mcclune, M.C., Enright, J.T., 2003. Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series. Neuroscience 121, 233–52.
- Buzsaki, G., 2006. Rhythms of the Brain. Oxford University Press, Inc., Oxford New York.
- Buzsáki, G., Logothetis, N., Singer, W., 2013. Scaling brain size, keeping timing: evolutionary preservation of brain rhythms. Neuron 80, 751–64.

- Buzsáki, G., Wang, X.-J., 2012. Mechanisms of Gamma Oscillations. Annual Review of Neuroscience 35, 203–225.
- Cantero, J.L., Atienza, M., Madsen, J.R., Stickgold, R., 2004. Gamma EEG dynamics in neocortex and hippocampus during human wakefulness and sleep. NeuroImage 22, 1271–80.
- Cantero, J.L., Atienza, M., Salas, R.M., 2000. Valor clínico de la coherencia EEG como índice electrofisiológico de conectividad córtico-cortical durante el sueño 31, 442–454.
- Castro, S., Cavelli, M., Torterolo, P., Falconi, A., Rava, M., Criado, A., Chiappella, L., Scavone, C., Ardanaz, J.L., Gonzalez, G., 2014a. Análisis cuantitativo de la actividad eléctrica cortical en recién nacidos: estudio de la coherencia del EEG para la banda gamma de frecuencias, in: Congreso Internacional de Neuropediatría. Colonia.
- Castro, S., Cavelli, M., Velásquez, N., Migliaro, E., Falconi, A., Torterolo, P., 2014b. Efecto de la atropina sobre el EEG: ondas lentas y oscilaciones gamma (30-45 Hz) coherentes. XV Jornadas de la SUB, Piriapolis, Maldonado.
- Castro, S., Cavelli, M., Vollono, P., Chase, M.H., Falconi, A., Torterolo, P., 2014c. Interhemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness. Neuroscience letters 578, 197–202.
- Castro, S., Falconi, A., Chase, M.H., Torterolo, P., 2013. Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. The European journal of neuroscience 37, 1330–9.
- Cavelli, M., Castro, S., Schwarzkopf, N., Chase, M.H., Falconi, A., Torterolo, P., 2015. Coherent neocortical gamma oscillations decrease during REM sleep in the rat. Behavioural brain research 281, 318–25.
- Chase, M.H., Soja, P.J., Morales, F.R., 1989. Evidence that glycine mediates the postsynaptic potentials that inhibit lumbar motoneurons during the atonia of active sleep. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 9, 743–51.
- Corsi-Cabrera, M., Miró, E., del-Río-Portilla, Y., Pérez-Garci, E., Villanueva, Y., Guevara, M.A., 2003. Rapid eye movement sleep dreaming is characterized by uncoupled EEG activity between frontal and perceptual cortical regions. Brain and cognition 51, 337–45.
- Corsi-Cabrera, M., Sifuentes-Ortega, R., Rosales-Lagarde, A., Rojas-Ramos, O. a, Del Río-Portilla, Y., 2014. Enhanced synchronization of gamma activity between frontal lobes during REM sleep as a function of REM sleep deprivation in man. Experimental brain research 232, 1497–508.
- Coyle, C.M., Laws, K.R., 2015. The use of ketamine as an antidepressant: a systematic review and meta-analysis. Human psychopharmacology 30, 152–63.
- Dement, W., 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, 339– 46.

Edelman, G.M., Tononi, G., 2000. A universe of consciousness., Basic Book. ed. New York.

- Feenstra, M.G., 2000. Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward. Progress in brain research 126, 133–63.
- Fiorillo, C.D., Tobler, P.N., Schultz, W., 2003. Discrete coding of reward probability and uncertainty by dopamine neurons. Science (New York, N.Y.) 299, 1898–902.
- Foote, S.L., Berridge, C.W., Adams, L.M., Pineda, J.A., 1991. Electrophysiological evidence for the involvement of the locus coeruleus in alerting, orienting, and attending. Progress in brain research 88, 521–32.
- Geyer, M.A., Ellenbroek, B., 2003. Animal behavior models of the mechanisms underlying antipsychotic atypicality. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry 27, 1071–9.
- Gottesmann, C., 2006. The dreaming sleep stage: a new neurobiological model of schizophrenia? Neuroscience 140, 1105–15.
- Gottesmann, C., Gottesman, I., 2007. The neurobiological characteristics of rapid eye movement (REM) sleep are candidate endophenotypes of depression, schizophrenia, mental retardation and dementia. Progress in neurobiology 81, 237–50.
- Gray, C.M., König, P., Engel, A.K., Singer, W., 1989. Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. Nature 338, 334–7.
- Gray, C.M., Singer, W., 1989. Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 86, 1698–1702.
- Grossberg, S., 1976. Adaptive pattern classification and universal recoding: II. Feedback, expectation, olfaction, illusions. Biological cybernetics 23, 187–202.
- Härle, M., Rockstroh, B.S., Keil, A., Wienbruch, C., Elbert, T.R., 2004. Mapping the brain's orchestration during speech comprehension: task-specific facilitation of regional synchrony in neural networks. BMC neuroscience 5, 40.
- Hobson, J. a, 1997. Dreaming as delirium: a mental status analysis of our nightly madness. Seminars in neurology 17, 121–128.
- Hobson, J.A., 2009. REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. Nature reviews. Neuroscience 10, 803–813.
- Hsu, L.-Y., 2014. Ketamine use in Taiwan: Moral panic, civilizing processes, and democratization. The International journal on drug policy 25, 819–22. doi:10.1016/j.drugpo.2014.05.006
- Jasper, H.H., Andrews, H.L., 1938. BRAIN POTENTIALS AND VOLUNTARY MUSCLE ACTIVITY IN MAN. J Neurophysiol 1, 87–100.

- Javitt, D.C., Zukin, S.R., 1991. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. The American journal of psychiatry 148, 1301–8.
- JND, 2012. Junta Nacional de Drogas. Quinta Encuesta Nacional en Hogares sobre Consumo de Drogas. Informe de Investigación. Informe de Investigación. Mayo 2012, Observatorio Uruguayo de Drogas (OUD).

John, E.R., 2002. The neurophysics of consciousness. Brain Research Reviews 39, 1–28.

- Joliot, M., Ribary, U., Llinás, R., 1994. Human oscillatory brain activity near 40 Hz coexists with cognitive temporal binding. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 91, 11748–51.
- Lagos, P., Torterolo, P., Jantos, H., Chase, M.H., Monti, J.M., 2009. Effects on sleep of melaninconcentrating hormone (MCH) microinjections into the dorsal raphe nucleus. Brain research 1265, 103–10.
- Lazarewicz, M.T., Ehrlichman, R.S., Maxwell, C.R., Gandal, M.J., Finkel, L.H., Siegel, S.J., 2010. Ketamine modulates theta and gamma oscillations. Journal of cognitive neuroscience 22, 1452–1464.
- Lee, J., Narang, P., Enja, M., Lippmann, S., 2015. Use of ketamine in acute cases of suicidality. Innovations in clinical neuroscience 12, 29–31.
- Llinás, R., Ribary, U., 2006. Consciousness and the Brain. Annals of the New York Academy of Sciences 929, 166–175.
- Llinás, R., Ribary, U., 1993. Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90, 2078–81.
- Llinás, R., Ribary, U., Contreras, D., Pedroarena, C., 1998. The neuronal basis for consciousness. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences 353, 1841–9.
- Lodge, D., Mercier, M.S., 2015. Ketamine and Phencyclidine: the good, the bad and the unexpected. British journal of pharmacology.
- Maloney, K.J., Cape, E.G., Gotman, J., Jones, B.E., 1997. High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. Neuroscience 76, 541–55.
- Maquet, P., Laureys, S., Peigneux, P., Fuchs, S., Petiau, C., Phillips, C., Aerts, J., Del Fiore, G., Degueldre, C., Meulemans, T., Luxen, A., Franck, G., Van Der Linden, M., Smith, C., Cleeremans, A., 2000. Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. Nature neuroscience 3, 831–6.
- Mashour, G. a, 2006. Integrating the science of consciousness and anesthesia. Anesthesia and analgesia 103, 975–82.
McCarley, R.W., 2007. Neurobiology of REM and NREM sleep. Sleep medicine 8, 302–30.

- Melloni, L., Molina, C., Pena, M., Torres, D., Singer, W., Rodriguez, E., 2007. Synchronization of neural activity across cortical areas correlates with conscious perception. The Journal of neuroscience 27, 2858–65.
- Milner, P.M., 1974. A model for visual shape recognition. Psychological review 81, 521–35.
- Mirenowicz, J., Schultz, W., 1996. Preferential activation of midbrain dopamine neurons by appetitive rather than aversive stimuli. Nature 379, 449–51.
- Moghaddam, B., Jackson, M.E., 2003. Glutamatergic animal models of schizophrenia. Annals of the New York Academy of Sciences 1003, 131–7.
- Montagna, P., 2005. Fatal familial insomnia: a model disease in sleep physiopathology. Sleep medicine reviews 9, 339–53.
- Morrison, A.R., 1983. A Window on the Sleeping Brain. Scientific American 248, 94–102.
- Moruzzi, G., Magoun, H.W., 1949. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroencephalography and clinical neurophysiology 1, 455–73.
- Nir, Y., Tononi, G., 2010. Dreaming and the brain: from phenomenology to neurophysiology. Trends in Cognitive Sciences 14, 88–100.
- Nunez, P.L., Srinivasan, R., Westdorp, A.F., Wijesinghe, R.S., Tucker, D.M., Silberstein, R.B., Cadusch, P.J., 1997. EEG coherency. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 103, 499–515.
- Pal, D., Hambrecht-Wiedbusch, V.S., Silverstein, B.H., Mashour, G.A., 2015. Electroencephalographic coherence and cortical acetylcholine during ketamine-induced unconsciousness. British journal of anaesthesia aev095–.
- Paxinos, G., Watson, C., 1982. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.
- Penley, S.C., Hinman, J.R., Sabolek, H.R., Escab??, M. a., Markus, E.J., Chrobak, J.J., 2012. Theta and gamma coherence across the septotemporal axis during distinct behavioral states. Hippocampus 22, 1164–1175.
- Pérez-Garci, E., del-Río-Portilla, Y., Guevara, M. a, Arce, C., Corsi-Cabrera, M., 2001. Paradoxical sleep is characterized by uncoupled gamma activity between frontal and perceptual cortical regions. Sleep 24, 118–26.

Rechtschaffen, A., 1978. The single-mindedness and isolation of dreams. Sleep 1, 97–109.

Rieder, M.K., Rahm, B., Williams, J.D., Kaiser, J., 2011. Human γ-band activity and behavior. International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology 79, 39–48.

- Rodriguez, E., George, N., Lachaux, J.P., Martinerie, J., Renault, B., Varela, F.J., 1999. Perception's shadow: long-distance synchronization of human brain activity. Nature 397, 430–3. doi:10.1038/17120
- Rojas-Líbano, D., Kay, L.M., 2008. Olfactory system gamma oscillations: the physiological dissection of a cognitive neural system. Cognitive neurodynamics 2, 179–94.
- Rung, J.P., Carlsson, A., Rydén Markinhuhta, K., Carlsson, M.L., 2005. (+)-MK-801 induced social withdrawal in rats; a model for negative symptoms of schizophrenia. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry 29, 827–32.
- Scarone, S., Manzone, M.L., Gambini, O., Kantzas, I., Limosani, I., D'Agostino, A., Hobson, J.A., 2008. The dream as a model for psychosis: an experimental approach using bizarreness as a cognitive marker. Schizophrenia bulletin 34, 515–22.
- Scheffzuk, C., Kukushka, V.I., Vyssotski, A.L., Draguhn, A., Tort, A.B.L., Branka??k, J., 2011. Selective coupling between theta phase and neocortical fast gamma oscillations during REM-sleep in mice. PLoS ONE 6, e28489.
- Schenck, C.H., Bundlie, S.R., Ettinger, M.G., Mahowald, M.W., 1986. Chronic behavioral disorders of human REM sleep: a new category of parasomnia. Sleep 9, 293–308.
- Singer, W., 2015. Complexity as Substrate for Neuronal Computations. Academy, Science Pontifical City, Vatican 1–10.
- Singer, W., 2007. Binding by synchrony. Scholarpedia 2, 1657. doi:10.4249/scholarpedia.1657
- Singer, W., 2004. Synchrony, oscillations, and relational codes, in: Chalupa, L. M., Werner, J.S. (Ed.), The Visual Neurosciences. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, pp. 1665– 1681.
- Singer, W., 1999. Neuronal Synchrony : A Versatile Code for the Definition of Relations ? Most of our knowledge about the functional organization. Neuron 24, 49–65.
- Steriade, M., Amzica, F., Contreras, D., 1996. Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 16, 392–417.
- Tiitinen, H., Sinkkonen, J., Reinikainen, K., Alho, K., Lavikainen, J., Näätänen, R., 1993. Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans. Nature 364, 59–60.
- Tort, A.B.L., Komorowski, R., Eichenbaum, H., Kopell, N., 2010. Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. Journal of neurophysiology 104, 1195–210.
- Tort, A.B.L., Scheffer-Teixeira, R., Souza, B.C., Draguhn, A., Brankačk, J., 2013. Thetaassociated high-frequency oscillations (110-160Hz) in the hippocampus and neocortex. Progress in neurobiology 100, 1–14.

- Torterolo, P., Castro-Zaballa, S., Cavelli, M., Chase, M.H., Falconi, A., 2015. Coherent neocortical 40-Hz oscillations are maximal during carbachol-induced cataplexy and absent during carbachol-induced REM sleep. European Journal of Neuroscience in press.
- Torterolo, P., Vanini, G., 2010. Nuevos conceptos sobre la generación y el mantenimiento de la vigilia. Revista de Neurologia 50, 747–758.
- Uhlhaas, P.J., Linden, D.E.J., Singer, W., Haenschel, C., Lindner, M., Maurer, K., Rodriguez, E., 2006. Dysfunctional long-range coordination of neural activity during Gestalt perception in schizophrenia. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 26, 8168–75.
- Uhlhaas, P.J., Pipa, G., Lima, B., Melloni, L., Neuenschwander, S., Nikolic, D., Lin, S., 2009. Neural synchrony in cortical networks : history, concept and current status. Front Integr Neurosci 3, 1–19.
- Uhlhaas, P.J., Pipa, G., Neuenschwander, S., Wibral, M., Singer, W., 2011. A new look at gamma? High- (>60 Hz) ??-band activity in cortical networks: Function, mechanisms and impairment. Progress in Biophysics and Molecular Biology 105, 14–28.
- Uhlhaas, P.J., Singer, W., 2010. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. Nature reviews. Neuroscience 11, 100–13.
- Uhlhaas, P.J., Singer, W., 2006. Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. Neuron 52, 155–68.
- Von der Malsburg, C., 1995. Binding in models of perception and brain function. Current Opinion in Neurobiology 5, 520–526.
- Von der Malsburg, C., Schneider, W., 1986. A neural cocktail-party processor. Biological cybernetics 54, 29–40.
- Voss, U., Holzmann, R., Hobson, A., Paulus, W., Koppehele-Gossel, J., Klimke, A., Nitsche, M. a, 2014. Induction of self awareness in dreams through frontal low current stimulation of gamma activity. Nature neuroscience 1–5.
- Voss, U., Holzmann, R., Tuin, I., Hobson, J.A., 2009. Lucid dreaming: a state of consciousness with features of both waking and non-lucid dreaming. Sleep 32, 1191–200.
- Wang, X., 2010. Neurophysiological and Computational Principles of Cortical Rhythms in Cognition 1195–1268.
- Wu, M.F., Gulyani, S.A., Yau, E., Mignot, E., Phan, B., Siegel, J.M., 1999. Locus coeruleus neurons: cessation of activity during cataplexy. Neuroscience 91, 1389–99.