



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Biología

Departamento de Fisiología

Grupo Neurociencia y Comportamiento

Álvaro Sánchez López

ASPECTOS TÓNICOS Y FÁSICOS DEL SUEÑO REM EN LA RATA

Tesis Doctoral dirigida por el Dr. Miguel Escudero González

Sevilla, 2017

D. Miguel Escudero González, profesor titular del Departamento de Fisiología de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla,

CERTIFICA:

Que el presente trabajo titulado **“ASPECTOS TÓNICOS Y FÁSICOS DEL SUEÑO REM EN LA RATA”** ha sido realizado bajo su dirección y supervisión por D. Álvaro Sánchez López, Licenciado en Bioquímica por la Universidad de Sevilla, y considera que reúne las condiciones de calidad y rigor científico para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral.

Sevilla, 30 de Mayo de 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Escudero', written in a cursive style.

Fdo.: Miguel Escudero González

«The most beautiful thing we can experience is the mysterious.

It is the source of all true art and science».

Albert Einstein

A todos los que con su apoyo y ayuda han hecho posible este trabajo, mi más sincero y profundo agradecimiento.

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	13
1.1 El ciclo vigilia-sueño	16
1.1.1 Sistemas promotores de la vigilia	16
1.1.2 Sistemas promotores del sueño NREM.....	18
1.1.3 Sistemas promotores del sueño REM	19
1.1.4 Regulación del ciclo vigilia-sueño.....	20
1.1.5 El periodo de transición a sueño REM	23
1.2 La caracterización del ciclo vigilia-sueño	24
1.2.1 Actividades tónicas y fásicas de los sistemas motores	25
1.2.1.1 El comportamiento de los sistemas motores durante la fase REM.....	25
1.2.1.2 El sistema oculomotor.....	26
1.2.1.2.1 La musculatura extraocular	26
1.2.1.2.2 Comportamiento de las motoneuronas extraoculares.....	28
1.2.1.2.3 Los movimientos oculares durante la vigilia.....	30
1.2.1.2.4 Los movimientos oculares durante la fase NREM	30
1.2.1.2.5 Los movimientos oculares durante la fase REM	31
1.2.2 Actividades tónicas y fásicas de la actividad EEG.....	32
1.2.2.1 Origen y propiedades de la actividad EEG.....	32
1.2.2.2 Características del EEG durante la fase REM.....	34
1.2.2.2.1 El ritmo theta	34
1.2.2.2.2 Gamma y alta frecuencia	36
2 OBJETIVOS	41
3 MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1 Preparación del animal crónico.....	47
3.1.1 Anestesia, preoperatorio y generalidades quirúrgicas	47
3.1.2 Implantación de electrodos para el registro de la actividad electroencefalográfica	48
3.1.3 Implantación de electrodos usados como referencia.....	48
3.1.4 Implantación de electrodos para el registro de la actividad electromiográfica.....	48
3.1.5 Implantación de electrodos intracerebrales.....	50
3.1.6 Implantación del sistema de sujeción de la cabeza y de los conectores para el sistema de registro	50
3.1.7 Implantación de las bobinas periorbitales para la detección de la posición ocular	50
3.1.8 Postoperatorio	51
3.2 Técnicas de registro	51
3.2.1 Registro en el animal inmovilizado	51
3.2.1.1 Periodo de habituación y sesiones experimentales	51
3.2.1.2 Inmovilización del animal	52
3.2.1.3 Calibración de los movimientos oculares	52
3.2.2 Registro en el animal no inmovilizado	54
3.2.3 Acondicionamiento de las señales y registro de la actividad polisomnográfica.....	54
3.3 Lesiones electrolíticas	55
3.4 Callosotomía	55
3.5 Sacrificio de los animales tras los experimentos y procesamiento histológico	55
3.6 Análisis y tratamiento estadístico de los datos.....	56
3.6.1 Movimientos oculares durante el ciclo vigilia-sueño.....	56
3.6.2 Análisis de la posición de los ojos a lo largo del ciclo vigilia-sueño	57
3.6.3 Potencia espectral de la actividad electroencefalográfica durante el ciclo vigilia-sueño.....	57
3.6.4 Mapa de localización de las actividades corticales	58

3.6.5 Filtrado y acondicionamiento de las señales electroencefalográficas.....	58
3.6.6 Análisis de modulación de las señales electroencefalográficas	59
3.6.7 Análisis de las variaciones tiempo-frecuencia de las señales electroencefalográficas	59
3.6.8 Análisis de coherencia espectral de las señales electroencefalográficas	60
3.6.9 Análisis de las relaciones de fase entre señales electroencefalográficas	60
3.6.10 Análisis de las transiciones entre estados.....	61
3.6.11 Análisis estadístico	62
4 RESULTADOS	63
4.1 Movimientos oculares durante el ciclo vigilia-sueño en la rata.....	67
4.1.1 Fase de vigilia	67
4.1.2 Fase NREM	71
4.1.3 Transición entre las fases NREM y REM.....	71
4.1.4 Fase REM.....	74
4.2 Desarrollo de un sistema portátil para el registro de los movimientos oculares	76
4.2.1 Generador de campos magnéticos	76
4.2.2 Registro con el sistema portátil	77
4.2.3 Comparación de los movimientos oculares registrados con el sistema portátil y con el sistema comercial	79
4.3 Características de la actividad electroencefalográfica durante el ciclo vigilia-sueño	81
4.3.1 Actividad electroencefalográfica durante la vigilia	82
4.3.2 Actividad electroencefalográfica durante la fase NREM.....	83
4.3.3 Actividad electroencefalográfica durante la fase REM	84
4.3.3.1 Componentes de frecuencia	84
4.3.3.2 Organización tónico-fásica de la actividad cortical	86
4.3.3.3 Desarrollo de las actividades fásicas y tónicas durante la transición a REM.....	88
4.3.3.4 Cinética de la actividad de alta frecuencia durante el periodo de transición y su relación con las variables clásicas que definen las fases NREM y REM.....	90
4.3.3.5 Mapa cortical de las oscilaciones de alta frecuencia.....	93
4.3.3.6 Organización cortical de las altas frecuencias	95
4.3.3.6.1 Relación de fase entre theta y los brotes de alta frecuencia en distintas ubicaciones	95
4.3.3.6.2 Coherencias de las actividades en un hemisferio y entre hemisferios	97
4.3.3.6.2.1 Relaciones de fase entre localizaciones de un mismo hemisferio	99
4.3.3.6.2.2 Relaciones de fase entre localizaciones de los dos hemisferios	104
4.3.3.7 Origen de la actividad de alta frecuencia	106
4.3.3.7.1 Hipocampo.....	107
4.3.3.7.2 Amígdala Central	108
4.3.3.7.3 Núcleo Basal del Lecho de la Estría Terminal	110
4.3.3.7.4 Núcleo Parafascicular Talámico	112
4.3.3.7.5 Organización interhemisférica de las oscilaciones de alta frecuencia: papel funcional del cuerpo caloso	114
5 DISCUSIÓN	119
5.1 Fenómenos tónicos y fásicos en el sistema oculomotor durante el sueño	121
5.1.1 Actividades tónicas durante la fase NREM	123
5.1.2 Actividades tónicas durante el periodo de transición y la fase REM	124
5.1.3 Actividades fásicas durante el periodo de transición a sueño REM	126
5.1.4 Actividades fásicas durante la fase REM.....	127
5.1.5 Relaciones entre la velocidad y la amplitud de los movimientos oculares durante la vigilia y la fase REM.....	128
5.2 Desarrollo de un sistema portátil para el registro de los movimientos oculares	130

5.3 Fenómenos tónicos y fásicos en la actividad EEG durante el sueño	132
5.3.1 Actividad EEG durante la fase REM	133
5.3.2 Desarrollo temporal de theta y de la actividad de alta frecuencia durante la transición a la fase REM.....	134
5.3.2.1 Relación temporal entre el desarrollo de la alta frecuencia y las variables clásicas del polisomnograma durante la transición	135
5.3.3 Organización cortical de las altas frecuencias.....	138
5.3.4 Experimentos de lesión.....	140
5.3.4.1 Lesión del hipocampo.....	141
5.3.4.2 Lesión de la amígdala central y del núcleo del lecho de la estría terminal	141
5.3.4.3 Lesión del núcleo parafascicular talámico.....	142
5.3.5 Comportamiento de las oscilaciones de alta frecuencia entre hemisferios y efecto de la callosotomía.....	144
5.3.6 El ritmo theta como organizador temporal de la actividad de alta frecuencia asociada a la fase REM.....	146
5.3.7 Función de la oscilación de alta frecuencia durante la fase REM	151
6 CONCLUSIONES	153
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157

1 INTRODUCCIÓN

“¿Qué pudiera haber más opuesto entre sí que los estados de la vigilia y el sueño? Los sentidos en pleno vigor y actividad, prestos a toda acción y diligentes ante cualquier esfuerzo; y la suspensión de cualquier sentido, la relajación e inercia de las facultades de la voluntad, tan similar a la muerte que nada, salvo la experiencia diaria de este mismo hecho, pudiera justificar nuestra esperanza de recuperación.”

Con estas palabras recogidas en *The Book of Nature* (1826), John Mason Good, miembro de la Sociedad Británica de Farmacéuticos, refleja la visión general que durante buena parte de la historia se ha tenido sobre el fenómeno del sueño, entendido como un estado de inactividad pasiva más cercano a la muerte que a la vida. Resulta paradójico que pese al avance del conocimiento en el campo de la fisiología, esta concepción del sueño como estado pasivo, fuera la visión generalizada hasta el descubrimiento de la fase REM, por parte de Eugene Aserinsky y Nathaniel Kleitman, a mediados del s. XX (Aserinsky y Kleitman, 1953 y 1955).

La fase REM, recibió este nombre del acrónimo inglés *Rapid Eye Movements*, en alusión a la presencia de periodos recurrentes de movimientos oculares rápidos durante el sueño, que condujeron a Aserinsky y Kleitman a su descubrimiento. La presencia de este tipo de movimientos, junto con las características que posteriormente se identificaron en las actividades motora y cortical (Jouvet y col., 1959), pusieron de manifiesto la existencia de fenómenos activos, que desacreditaron las teorías sobre la inactividad del sistema nervioso durante el sueño, y centraron la atención de muchos laboratorios, en el estudio de las características y regulación del ciclo vigilia-sueño.

El interés que suscitó la presencia de la fase REM durante el sueño, que hasta entonces se había considerado un estado homogéneo, condujo a importantes avances en la comprensión de los mecanismos generadores de los diferentes estados de alerta, de la regulación del ciclo vigilia-sueño y a la identificación de las variables fisiológicas que acompañan a los diferentes estados neurofuncionales. No obstante, en la actualidad, continúan existiendo importantes lagunas en el conocimiento de muchos de los fenómenos que clásicamente se han empleado en la caracterización de la fase REM y se hace necesaria la inclusión de nuevas actividades, que durante décadas han pasado desapercibidas.

1.1 El ciclo vigilia-sueño

1.1.1 Sistemas promotores de la vigilia

Si bien, con anterioridad, se habían propuesto todo tipo de teorías sobre el mantenimiento de la vigilia, hacia finales del s. XIX, la visión dominante asumía que esta se mantenía como resultado de la recepción de estímulos sensoriales. Esta teoría se apoyó en observaciones como las que realizaron Mauthner (1890) o Gayet (1875), quienes identificaron lesiones en el mesencéfalo de pacientes, cuyos síntomas incluían la parálisis de la musculatura ocular y letargia. En base a esto, se concluyó que la alteración de la entrada visual podría estar reduciendo la estimulación sensorial de la corteza, lo que conduciría al estado de letargia y sueño.

Años más tarde, von Economo (1930) identificó los síntomas descritos por Mauthner y Gayet, en pacientes aquejados de un brote de influenza, que ocurrió durante la Primera Guerra Mundial. El estudio detallado de la localización de las lesiones, en relación al abanico de síntomas que presentaron los pacientes, condujo a von Economo a identificar, por primera vez, la existencia de centros promotores de la vigilia y el sueño en las regiones caudal y rostral del tercer ventrículo, respectivamente (von Economo, 1930).

Los estudios de lesión realizados posteriormente por Bremer (1935a) en el gato, revelaron que tras la sección espinal a nivel de C1 (*encéphale isolé*) se seguían manteniendo ciclos que se asemejaban a la vigilia y el sueño. Por el contrario, la sección del mesencéfalo a nivel intercolicular producía un estado comatoso similar al sueño, resultado de la interrupción de las conexiones procedentes del mesencéfalo caudal y el puente, que Bremer (1935b) atribuyó al bloqueo de las entradas sensoriales. Estos resultados demostraron el papel del tronco del encéfalo en el mantenimiento de la vigilia (Bremer, 1935a y b), confirmando las observaciones realizadas por von Economo (1930).

En los años posteriores a los experimentos de Bremer, sus discípulos Moruzzi y Magoun (1949), demostraron que la estimulación eléctrica de la formación reticular del puente en gatos sedados, inducía un estado que ellos denominaron de *activación cortical*, y que estaba caracterizado por patrones de actividad cortical semejantes a los observados durante la vigilia. Estos resultados, junto con la inducción de un estado comatoso al lesionar la formación reticular del tronco, respetando las proyecciones sensoriales de la vía lemniscal (Lindsley y col., 1949 y 1950), llevaron a Moruzzi y Magoun a proponer la existencia de un *sistema reticular ascendente*, con origen en la formación reticular del puente, como responsable de la

activación de la corteza y del mantenimiento de la vigilia, e independiente de las entradas sensoriales (Moruzzi y Magoun, 1949).

Estudios posteriores demostraron que este sistema activador ascendente tiene su origen en grupos específicos de neuronas que producen la activación de la corteza mediante dos vías principales, una que inerva al tálamo y otra que se extiende hasta el hipotálamo (Saper y col., 2001; Jones, 2003; Saper y col., 2005; Saper y col., 2010; Brown y col., 2012). La primera de estas vías, tiene su origen en las neuronas colinérgicas de los núcleos pedunculopontino (PPT) y tegmental laterodorsal (LDT), que se localizan en la región oral del puente y caudal del mesencéfalo. Mediante técnicas de marcaje retrógrado, se ha determinado que las proyecciones que componen la vía colinérgica, alcanzan el tálamo a nivel de los núcleos de relevo, intralaminares y reticular talámico (Satoh y Fibiger, 1986; Hallanger y col., 1987). El incremento en la tasa de disparo de las neuronas colinérgicas durante los periodos de vigilia y fase REM (el Mansari y col., 1989), genera la activación de la corteza mediante dos efectos paralelos sobre el tálamo: la activación de las neuronas talámicas que proyectan activadoramente sobre la corteza y la inhibición de las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular talámico, que inhiben a las neuronas de proyección tálamo-cortical. Mediante este sistema se aumenta la actividad talámica, esencial para la transferencia de información a la corteza, lo que genera un incremento del nivel de actividad cortical (McCormick, 1989; Steriade y col., 1993a).

La segunda de las vías que componen el sistema activador ascendente, tiene su origen en grupos de neuronas monoaminérgicas mesencefálicas que dejan colaterales en el hipotálamo posterior y lateral, y en el prosencéfalo basal (Saper y col., 2001; Jones, 2003; Saper y col., 2005; Saper y col., 2010; Brown y col., 2012). Entre estas neuronas se encuentran las noradrenérgicas del locus coeruleus (LC), las serotoninérgicas de los núcleos del rafé dorsal (RD) y medial (Dahlström y Fuxe, 1964; Aston-Jones y Bloom, 1981; Kocsis y col., 2006) y las dopaminérgicas de la sustancia gris periacueductal (SGPA) (Lu y col., 2006a), a las que se suman las neuronas histaminérgicas del núcleo tuberomamilar (TMN), con un patrón de proyecciones similar a las anteriores (Panula y col., 1989; Steininger y col., 1999). De forma general, todas estas neuronas alcanzan su tasa de disparo máxima durante la vigilia, reducen el nivel de actividad durante la fase NREM y permanecen silentes durante la fase REM (Hobson y col., 1975; Aston-Jones y Bloom, 1981; Trulson y col., 1981; Steininger y col., 1999; Kocsis y col., 2006; Takahashi y col., 2006 y 2010). Las colaterales de las neuronas monoaminérgicas alcanzan a las neuronas de tipo glutamatérgico, histaminérgico y orexinérgico/hipocretinérgico a nivel del hipotálamo posterior y lateral (Jones, 2005; Brown y col., 2012), y en conjunto estos

sistemas convergen en las neuronas colinérgicas, GABAérgicas y glutamatérgicas del prosencéfalo basal, que activan a la corteza generando el patrón de actividad característico de la vigilia.

1.1.2 Sistemas promotores del sueño NREM

Entre las observaciones que realizó von Economo (1930), se encuentra la de un grupo de pacientes aquejados de encefalitis, cuyos síntomas incluían el insomnio asociado a lesiones en los ganglios basales y el hipotálamo anterior. Posteriormente, los episodios de insomnio que se indujeron en el gato y en la rata como resultado de lesionar el núcleo preóptico ventrolateral (POVL), permitió identificar esta estructura como una pieza clave para el desarrollo del sueño (Nauta, 1946; McGinty y Serman, 1968; Sallanon y col., 1989).

Mientras que la mayoría de neuronas del sistema nervioso permanecen más activas durante la vigilia, o son insensibles al estado de vigilia, un gran número de neuronas inhibitorias del POVL se activan de forma específica con el inicio del sueño (Sherin y col., 1996; Szymusiak y col., 1998; Takahashi y col., 2009). Estas neuronas de tipo GABAérgico y galaninérgico, proyectan caudalmente hacia las principales poblaciones de neuronas implicadas en el sistema activador responsable de la vigilia, y se organizan formando un grupo central compacto y una red dorsal más difusa (Sherin y col., 1996 y 1998; Steininger y col., 2001; Gaus y col., 2002). Como se ha comprobado, cada una de estas subpoblaciones tiene un papel funcional diferente. Mientras que la lesión del grupo compacto de neuronas del POVL reduce principalmente la cantidad de sueño NREM, la lesión del grupo difuso afecta principalmente a la fase REM (Lu y col., 2000). Las neuronas del POVL difuso, constituyen la salida principal de este núcleo hacia el LC y el RD, importantes, además de para la vigilia, para la entrada en fase REM (Lu y col., 2002; Verret y col., 2006). En cambio, las neuronas del grupo compacto del POVL inervan fuertemente a las neuronas histaminérgicas, que están implicadas en las transiciones entre la vigilia y la fase NREM (Lu y col., 2002; Ko y col., 2003; John y col., 2004). Por su parte, los principales sistemas monoaminérgicos proyectan e inhiben al POVL (Chou y col., 2002), estableciéndose una relación de inhibición recíproca entre los sistemas promotores de la vigilia y del sueño, cuyo equilibrio determina el estado de alerta (Lu y col., 2006b). En adición a esto, el POVL recibe también proyecciones directas desde la retina (Lu y col., 1999), e indirectas desde el núcleo supraquiasmático (NSQ), a través del hipotálamo dorso-medial (Chou y col., 2002; Deurveilher y col., 2002; Sun y col., 2001), vía por la que se piensa que la luz podría afectar al sueño.

Del resto de neuronas implicadas en la generación del sueño, la población mejor estudiada ha sido la del núcleo preóptico medial (POM), en la que aproximadamente el 75% de las neuronas alcanza su mayor tasa de actividad durante sueño (Gong y col., 2004). A diferencia de lo que ocurre en el POVL, las neuronas del POM comienzan a activarse antes del desarrollo del sueño, por lo que se ha propuesto que estas neuronas actúan generando “presión” de sueño. En este sentido, se ha comprobado que durante la privación de sueño, las neuronas del POM expresan la proteína c-Fos, indicadora de activación, a diferencia de las del POVL, que solo lo hacen durante sueño (Gvilia y col., 2006).

1.1.3 Sistemas promotores del sueño REM

En los años posteriores al descubrimiento de la fase REM, los estudios de Jouvet (1962) centraron la atención en el papel de las neuronas del puente en la generación y regulación de la fase REM. Los experimentos de Jouvet (1962), mostraron que la sección del tronco del encéfalo a nivel del mesencéfalo, suprimía, en la región rostral a la lesión, los signos característicos de la fase REM, mientras que en la región caudal a la sección, se seguían registrando actividades relacionadas con la fase REM. Estos experimentos demostraron que la región del puente cumple los criterios de suficiencia y necesidad para la generación de la fase REM.

Estudios posteriores, que se basaron en la lesión selectiva de diferentes grupos de neuronas, revelaron que el desarrollo de los signos que identifican la fase REM depende de las neuronas de la formación reticular pontina (FRP) (Webster y Jones, 1988). El nivel de actividad de las neuronas de la FRP parece depender, en gran medida, de las aferencias colinérgicas a esta región, como se deduce de los experimentos que indujeron la fase REM mediante la administración de agonistas colinérgicos (Hernández-Peón y col., 1963; Webster y Jones, 1988; Reinoso-Suárez y col., 1994; Baghdoyan, 1997; Garzón y col., 1998; Márquez-Ruiz y Escudero, 2009 y 2010). En condiciones normales, las entradas colinérgicas a la FRP durante la fase REM, incrementan la excitabilidad de las neuronas, mediante su despolarización, en relación a la fase NREM (Ito y col. 2002). Este cambio en el potencial de membrana se mantiene durante toda la fase REM, afectando a más del 90% de las neuronas de la FRP. Esto es muy diferente de lo que ocurre durante la vigilia, cuando las entradas colinérgicas afectan de forma selectiva a poblaciones de neuronas de la FRP, exclusivamente en relación a la ejecución de comportamientos específicos (Steriade y McCarley, 2005).

Las principales entradas colinérgicas a la FRP proceden de los núcleos PPT y LDT, cuyas neuronas comienzan a disparar brotes de potenciales de acción segundos antes del desarrollo de la fase REM (Sakai y Jouvet., 1980; el Mansari y col., 1989; Steriade y col., 1990). Esto convierte a estas neuronas en las principales candidatas a iniciar la cascada de eventos que conducen a la fase REM. Este comportamiento de las neuronas colinérgicas del PPT y del LDT, frecuentemente denominadas neuronas REM-on, contrasta con el de las neuronas monoaminérgicas del LC, el RD y el TMN, que permanecen silentes durante REM y, junto con otras poblaciones de igual comportamiento, como las neuronas de la región peribraquial, son referidas como neuronas REM-off (Hobson y col., 1975; Aston-Jones y Bloom, 1981; Trulson y col., 1981; Steininger y col., 1999; Kocsis y col., 2006; Takahashi y col., 2006 y 2010).

1.1.4 Regulación del ciclo vigilia-sueño

El patrón de disparo invertido entre las neuronas REM-on y REM-off en relación al ciclo vigilia-sueño, llevó a Hobson y colaboradores (1975) a proponer que los sistemas colinérgico y monoaminérgico interactúan regulando la alternancia entre las fases REM y NREM. Esta hipótesis se vio inicialmente reforzada por el hecho de que las inyecciones de agonistas colinérgicos en el área tegmental pontina pueden inducir sueño REM, mientras que los fármacos que incrementan la señalización monoaminérgica inhiben la fase REM (Luppi y col., 2006). No obstante, las lesiones de los sistemas colinérgico y monoaminérgico han demostrado tener poco efecto sobre el desarrollo de la fase REM (Webster y Jones, 1988; Shouse y Siegel, 1992; Lu y col., 2006b; Blanco-Centurión y col., 2007), lo que sugiere que el balance entre estos actúa como un potente modulador de la fase REM, pero no determina su aparición (Saper y col., 2010).

Los estudios de expresión de proteína c-Fos en la rata, revelaron la existencia de poblaciones de neuronas activas durante la fase REM en los núcleos sublaterodorsal (SLD) - denominado perilocus en el gato-, ventral y caudal al LC; el precoeruleus (PC), dorsal al SLD y caudal al LDT; y el núcleo medial parabraquial (MPB), dorsolateral al SLD (Boissard y col., 2002; Lu y col., 2006b). De entre estos grupos de neuronas, las del SLD parecen jugar un papel importante en la regulación de la fase REM, como se deduce de la inducción de comportamientos similares al sueño REM tras su desinhibición (Boissard y col., 2002), o la fragmentación y reducción de la cantidad de REM que se genera tras su lesión (Lu y col. 2006b). El SLD recibe aferencias GABAérgicas de la región ventral de la sustancia gris periaqueductal (vSGPA) y el área tegmental pontina lateral (LPT) (Boissard y col., 2003; Lu y

col., 2006b), que a su vez reciben entradas inhibitorias de las neuronas promotoras de REM del POVL difuso y excitadoras de las neuronas orexinérgicas del hipotálamo lateral, inhibitorias de la fase REM (Lu y col., 2006b). Esta organización junto al hecho de que las neuronas del vSGPA y del LPT reciben, a su vez, aferencias inhibitorias desde el SLD, ha llevado a proponer que la relación de inhibición recíproca entre el SLD y el sistema vSGPA-LPT, regula la entrada y salida de REM, de la misma forma que la relación entre el POVL y el sistema activador ascendente, regula el equilibrio entre vigilia y sueño (Lu y col., 2006b; Saper y col., 2010).

A este sistema principal, se suma la regulación, por parte de otros elementos, como las neuronas del hipotálamo lateral y posterior, productoras de hormona concentradora de melanina (MCH), que presentan el mismo patrón de distribución y proyecciones que las neuronas orexinérgicas. Las neuronas productoras de MCH disparan principalmente durante la fase REM (Verret y col., 2003; Hassani y col., 2009), inhibiendo a las mismas poblaciones que las neuronas orexinérgicas activan durante la vigilia.

De acuerdo con todo lo anterior, la teoría actualmente más aceptada, sostiene que, el desarrollo de los diferentes estados de alerta, se produce en base al equilibrio entre poblaciones de neuronas, que se organizan a modo de un sistema de balancín en cascada (Lu y col., 2006b). Según este modelo, el mayor grado de actividad en las poblaciones que componen el sistema activador ascendente, determina que la vigilia sea el estado de alerta en curso, así como la inhibición de los sistemas promotores de sueño. Por el contrario, cuando el incremento de actividad en las poblaciones de neuronas responsables de la fase NREM se impone, produce la inhibición del sistema activador ascendente, induciendo el desarrollo de la fase NREM, y posibilitando el posterior desarrollo de la fase REM, al desbloquearse un segundo sistema de balancín. En este sistema, el paso directo desde la vigilia a la fase REM, se encuentra bloqueado por la inhibición de las neuronas REM-on y la excitación de las neuronas REM-off por parte del sistema activador ascendente, que determina que sea la fase NREM la que suceda a la vigilia. Este mecanismo de seguridad, se encuentra a su vez reforzado por las neuronas orexinérgicas y MCH, que regulan el equilibrio entre los dos sistemas de balancín.

Si bien el sistema anterior contiene los principales elementos y mecanismos por los que se produce el desarrollo de las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño, resta por explicar la propiedad homeostática del sueño, así como las influencias externas que determinan que el equilibrio del sistema de balancines, se incline hacia uno u otro estado de manera cíclica.

Una característica ampliamente reconocida del sueño, es la regulación homeostática a la que se encuentra sometido. Esta propiedad hace referencia al incremento en la probabilidad

de desarrollo del sueño y su mayor duración y profundidad, tras periodos prolongados de vigilia (Borbély y col., 1981; Borbély y Tobler, 1985; Dijk y col., 1990; Achermann y Borbély, 2003). Se considera que la homeostasis del sueño es el resultado de la acumulación de “factores de sueño” durante la vigilia, que activan a los sistemas promotores del sueño. El concepto de estos factores neuroquímicos, deriva de la búsqueda de *hipnotoxinas* a principios del s. XX, cuando se comprobó que la inyección de líquido cefalorraquídeo de animales privados de sueño a animales control, inducía sueño (Ishimori, 1909; Legendre y Piéron, 1913; Inoué, 1989).

De manera general, los factores hipnogénicos deberían cumplir que: 1) su administración induzca sueño; 2) el incremento de concentración de la sustancia en el cerebro correlacione con el incremento en la probabilidad de desarrollo del sueño; y 3) la sustancia debe actuar en regiones del cerebro y grupos de neuronas que están implicados en la regulación del sueño o de la vigilia (Brown y col., 2012). De acuerdo con estos criterios, una serie de estudios que se llevaron a cabo en las últimas décadas, identificaron varios de estos factores del sueño. Entre ellos destacan la adenosina (Porkka-Heiskanen y col., 2001; Basheer y col., 2004; Porkka-Heiskanen y Kalinchuk, 2011; Carús-Cadavieco y de Andrés, 2012; Petit y Magistretti, 2016; Reichert y col., 2016), el óxido nítrico (Ayers y col., 1996; Kalinchuk y col., 2006; Brown y col., 2012), la prostaglandina D₂ (Ueno y col., 1983; Urade y Hayaishi, 2011) y las citoquinas (Gómez-González y col., 2012; Weschenfelder y col., 2012).

Junto con los factores que regulan el desarrollo del sueño, el sistema circadiano ejerce un fuerte control sobre el sistema de balancines. El control de los ritmos circadianos en mamíferos se ejerce desde el NSQ en el hipotálamo, cuyas neuronas disparan rítmicamente y regulan muchas respuestas comportamentales con una periodicidad cercana a las 24 horas. La ritmicidad de estas neuronas, se produce como consecuencia de un sistema de bucles de retroalimentación entre factores transcripcionales, translacionales y postranslacionales, que regulan la expresión de los genes *clock*, que a su vez actúan como factores de transcripción, regulando la expresión de otros muchos genes (Jin y col., 1999; Reppert y Weaver, 2002). No obstante, el NSQ tiene una escasa proyección sobre los centros reguladores de la vigilia y el sueño (Watts y col., 1987). En lugar de esto, el grueso de las proyecciones del NSQ alcanzan al área subventricular, desde cuya región ventral parten proyecciones hacia el núcleo dorsomedial hipotalámico (Chou y col., 2003; Deurveilher y Semba, 2005). Por su parte, el núcleo dorsomedial hipotalámico contiene neuronas inhibitorias que proyectan sobre el POVL y excitadoras que proyectan sobre las neuronas orexinérgicas del hipotálamo lateral (Chou y

col., 2003; Thompson y col., 1996), mediando, de esta forma, entre el NSQ y los sistemas reguladores del ciclo vigilia-sueño.

1.1.5 El periodo de transición a sueño REM

Uno de los aspectos menos estudiados de la fase REM del sueño es su desarrollo como estado. La primera aproximación a este fenómeno proviene del estudio de la actividad de unidades en la corteza que realizaron McCarley y Hobson (1970). Estos autores describieron la existencia de un periodo, de aproximadamente un minuto de duración en el gato, durante el que las neuronas corticales experimentaron, hacia el final de la fase NREM, un incremento progresivo en su tasa de disparo, hasta alcanzar sus frecuencias típicas de la fase REM. En base a esta observación se estableció el concepto de transición, en alusión al cambio gradual del paso de la fase NREM a la REM. Posteriormente, otros estudios confirmaron la presencia de cambios graduales en la actividad cortical (Gottesmann, 1973, 1992, 1996; Gottesmann y col., 1984; Trachsel y col., 1988; Glin y col., 1991; Neckelmann y Ursin, 1993; Benington y col., 1994; Mandile y col., 1996; Ferri y col., 2001, Kirov y Moyanova, 2002; Capitani y col., 2005), la onda PGO (Steriade y col., 1989; Datta y Hobson, 1994; Datta, 1997; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008), la actividad muscular (Orem y col., 2000; Lu y col., 2005), el comportamiento de las motoneuronas (Nakamura y col., 1978; Chase y col., 1980; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008) y en los movimientos oculares (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008).

Como ya se ha tratado anteriormente, el sistema de control de la entrada en la fase REM, se caracteriza por la presencia de dos poblaciones de neuronas, denominadas REM-on y REM-off, que se inhiben de manera mutua (Lu y col., 2006b). Este tipo de organización tiene la propiedad de producir cambios rápidos de estado, al inhibirse una de las poblaciones como resultado de la activación de la población antagonica (Saper y col., 2001). Pese a la rapidez de este mecanismo, se cree que la existencia del periodo de transición, es una consecuencia de la gran cantidad de elementos que componen cada uno de los circuitos y que deben ser silenciados o activados para desarrollar la fase REM (Saper y col., 2010). En base a esta interpretación, resulta lógico definir el estado de transición como el intervalo en que se producen los cambios que afectan a cada una de las poblaciones que están implicadas en el desarrollo de la fase REM.

Desafortunadamente, los intentos de caracterizar el periodo de transición como un fenómeno sistémico, en base a varios de los parámetros definitorios de la fase REM, han sido escasos y con resultados dispares.

1.2 La caracterización del ciclo vigilia-sueño

De acuerdo con la definición proporcionada por Steriade y McCarley, *“un estado puede definirse como el conjunto de valores de un grupo de variables indicadoras de un organismo, que se mantienen durante un determinado intervalo de tiempo y se repiten periódicamente”* (Steriade y McCarley, 2005). En este contexto, las *variables indicadoras* no constituyen, por sí mismas, el estado, sino que son empleadas por su fiabilidad a la hora de predecir los valores presentes en otras muchas variables que conforman el estado en sí.

De esta forma, los tres estados de alerta principales –vigilia, fase NREM y fase REM-, se han identificados clásicamente, de manera objetiva y con gran fiabilidad, en base a tres variables fisiológicas que incluyen los ritmos del electroencefalograma (EEG), el tono muscular y los movimientos oculares.

En base a estas tres variables, la vigilia se caracteriza por la presencia de un EEG de baja amplitud y alta frecuencia, actividades fásicas y tónicas que se sobreponen al tono muscular en el electromiograma (EMG) y la presencia de movimientos oculares relacionados con la actividad del animal. El paso a la fase NREM, se caracteriza por el desarrollo de un EEG de gran amplitud y baja frecuencia, acompañado, a nivel motor, por la pérdida de las actividades fásicas y un descenso en el tono muscular. De manera general, el EEG durante la fase REM se caracteriza por la presencia de un marcado ritmo theta, oscilaciones de baja amplitud y alta frecuencia, y el componente occipital de la onda ponto-genículo-occipital (PGO). Desde el punto de vista motor, la fase REM se caracteriza por la pérdida del tono de la musculatura antigravitatoria, la presencia de fasciculaciones musculares de corta duración y el desarrollo de movimientos oculares rápidos.

Clásicamente, las actividades durante la fase REM del sueño se han subdividido en fenómenos tónicos, entendidos como aquellos que se mantienen sin interrupción a lo largo de cada episodio, y fenómenos fásicos, que ocurren de manera breve y en múltiples ocasiones durante cada episodio (Dement, 1969). De acuerdo con este criterio, la actividad cortical de baja amplitud y alta frecuencia, el ritmo theta de hipocampo y la atonía de la musculatura antigravitatoria, se consideran las actividades tónicas más representativas de la fase REM. Así

mismo, los movimientos oculares rápidos, las ondas PGO y las fasciculaciones de la musculatura somática, se consideran actividades fásicas características de la fase REM. No obstante, como se tratará más adelante, evidencias recientes apuntan a la necesidad de revisar algunos de estos criterios.

1.2.1 Actividades tónicas y fásicas de los sistemas motores

1.2.1.1 El comportamiento de los sistemas motores durante la fase REM

Durante la fase REM, el tono muscular antigravitatorio, disminuido durante la fase NREM, desaparece completamente, constituyendo el principal aspecto tónico a nivel motor. Además de por esta atonía, la fase REM se caracteriza por la presencia de activaciones fásicas aisladas o en pequeños brotes. Está bien establecido que estos comportamientos son el resultado de la actividad de las motoneuronas somáticas y espinales, las cuales sufren una leve hiperpolarización tónica con el paso de la vigilia a la fase NREM, causando el descenso en el tono muscular (Morales y Chase, 1978 y 1981; Nakamura y col., 1978). Con el paso a REM, la hiperpolarización tónica de las motoneuronas espinales se hace más acusada y, sobre esta hiperpolarización, se superponen ciclos fásicos, en cada uno de los cuales la motoneurona sufre una breve despolarización, precedida de una rápida hiperpolarización. Durante la despolarización fásica la motoneurona produce un brote de pocos potenciales de acción, responsables de las activaciones fásicas que se registran en la musculatura durante la fase REM (Chase y Morales, 1983).

Durante décadas, diferentes laboratorios han realizado estudios de la actividad de neuronas aislada (Karlsson y col., 2005), de la respuesta a la estimulación e inhibición eléctrica y farmacológica (Mitler y Dement, 1974; Baghdoyan y col., 1987; Vanni-Mercier y col., 1989; Yamamoto y col., 1990; Hajnik y col., 2000; Blanco-Centurión y col., 2007) y del efecto de lesiones en distintas estructuras (Mouret y col., 1967; Morrison, 1988; Sanford y col., 2001; Karlsson y col., 2005), concluyendo que el control de la actividad motora durante REM, se inicia a nivel de las neuronas REM-on de la formación reticular del puente.

La concepción actual del mecanismo de inhibición tónica de la motoneurona, comprende dos vías paralelas con origen en las proyecciones excitadoras de las neuronas de la formación reticular del puente. Una de estas vías, implica la excitación de poblaciones neuronales glicinérgicas en la región ventral de la formación reticular del bulbo, que proyectan sobre las motoneuronas espinales (Holstege y Bongers, 1991) y las inhiben (Magoun y Rhines,

1946; Siegel y col., 1983; Lai y Siegel, 1988; Yamuy y col., 1994; Boissard y col., 2003). La otra vía, se basa en una proyección directa, desde la formación reticular del puente, sobre las interneuronas inhibitorias espinales que inhiben a las motoneuronas (Lu y col., 2006b; Vetrivelan y col., 2009; Krenzer y col., 2011).

1.2.1.2 El sistema oculomotor

El sistema oculomotor es, probablemente, el sistema motor mejor conocido. La facilidad con la que se registran los movimientos oculares, la simplicidad de su organización motora y el número reducido de grados de libertad, junto con la localización troncoencefálica del sistema premotor y de las motoneuronas, ha permitido un estudio exhaustivo a todos los niveles.

No obstante, a pesar del amplio conocimiento que se tiene del comportamiento oculomotor durante la vigilia, y de que fueran los movimientos oculares los que condujeron al descubrimiento de la fase REM, la información sobre su actividad durante el sueño continúa siendo muy limitada.

1.2.1.2.1 La musculatura extraocular

Con escasas excepciones, la presencia de cuatro músculos rectos (superior, inferior, medial y lateral) y dos oblicuos (superior e inferior), es una constante en la escala filogenética desde los ciclóstomos. Algunas especies presentan además el músculo *retractor bulbi* y el elevador del párpado superior (Spencer y Porter, 2006). La acción de cada uno de estos músculos varía entre especies en base a parámetros como la ubicación frontal o lateral de los ojos, la inserción de la musculatura en respecto del plano ecuatorial del globo o la orientación de los canales semicirculares (Simpson y Graf, 1981; Ezure y Graf, 1984).

Los cuatro músculos rectos y el oblicuo superior tienen su origen en el anillo tendinoso de Zinn que rodea el foramen óptico, mientras que el oblicuo inferior se origina en el hueso maxilar localizado en la región nasal de la órbita (Sevel, 1986). Los rectos medial, lateral, superior e inferior se insertan en la esclerótica por delante del ecuador del globo ocular, en las regiones nasal, temporal, superior e inferior, respectivamente. El oblicuo superior se aproxima al globo desde su región anterior y se inserta por detrás del ecuador, en especies con visión frontal y, por delante, en mamíferos con disposición lateral de los ojos. El oblicuo inferior, discurre por debajo del tendón del recto inferior y se inserta en la región temporal del globo,

medial al tendón del recto lateral. Al igual que en el oblicuo superior, la inserción del inferior se localiza por detrás del ecuador del ojo, en animales con visión frontal, y por delante en animales con disposición lateral de los ojos (Spencer y Porter, 2006).

El recto medial y el recto lateral, se insertan de manera simétrica en la región nasal y temporal del ojo, siendo funcionalmente antagónicos y generando movimientos de aducción y abducción, respectivamente. Al igual que con los rectos medial y lateral, el recto superior y el recto inferior forman un par antagónico, cuyas inserciones, en la región superior e inferior del globo ocular, generan movimientos primarios de supraducción e infraducción, respectivamente. No obstante, el ángulo lateral con que se insertan el recto superior e inferior en el ojo, genera una componente secundaria, que varía entre especies en función ángulo de inserción. El recto superior, en animales de visión frontal, genera componentes secundarios del movimiento en aducción e intorsión, mientras que en animales de visión lateral, contribuye a la extorsión y abducción del ojo. El recto inferior en animales con visión frontal, genera componentes secundarias de aducción y extorsión, mientras que en animales de visión lateral genera componentes secundarias de intorsión y abducción (Simpson y Graf., 1981; Spencer y Porter, 2006).

La función primaria del músculo oblicuo superior, consiste en la intorsión del globo ocular y produce secundariamente, en animales con visión frontal, infraducción y abducción, mientras que en animales de visión lateral cumple las funciones secundarias de supraducción y aducción. La función primaria del oblicuo inferior, antagónico al oblicuo superior, implica la extorsión del globo ocular. Las funciones secundarias del oblicuo inferior incluyen, supraducción y abducción en animales de visión frontal, e infraducción y aducción, en animales de visión lateral.

El elevador del párpado superior, se origina en la región orbital del hueso esfenoides, sobre el foramen óptico, y en el origen del recto superior, con el que comparte un mismo origen embriológico (Gilbert, 1947). Pese a que este músculo se inserta en la piel y en la placa tarsal del párpado superior, siendo su función principal la elevación del párpado, ejerce una influencia indirecta sobre los movimientos oculares a través de la fusión parcial de su aponeurosis con el tendón del recto superior.

Junto con los músculos anteriormente descritos, muchos vertebrados presentan músculos extraoculares accesorios que, en la mayoría de las especies, constituyen el músculo *retractor bulbi*. La función de este músculo consiste en la retracción del globo ocular en la cuenca, permitiendo el cierre pasivo de la membrana nictitante. El *retractor bulbi* cuenta con

entre dos y cuatro fascículos en mamíferos con membrana nictitante funcional, y está reducido a una única rama en primates, en los que presenta una función análoga a la del recto lateral, por lo que se le denomina recto lateral accesorio (Spencer y Porter, 2006).

La ejecución de movimientos oculares, requiere que la musculatura extraocular venza las fuerzas viscosas de los tejidos que sostienen al ojo en su órbita, y que dificultan el inicio del movimiento, así como las fuerzas elásticas que, una vez que el ojo rota a una posición excéntrica, tienden a devolver al ojo a su posición primaria. Para vencer las fuerzas viscosas y ejecutar movimientos oculares, es precisa la acción de fibras de contracción rápida, que respondan a la actividad fásica procedente de los núcleos oculomotores. El mantenimiento de la posición, puede realizarse gracias a fibras resistentes a la fatiga, cuyo grado de contracción está determinado por la tasa de disparo tónica de las motoneuronas de los núcleos oculomotores. Estos dos tipos de fibras, fásicas y tónicas, presentan una distribución desigual en los músculos extraoculares, siendo las fibras de contracción rápida más abundantes en la sección más cercana al globo ocular -capa global-, y las fibras de resistencia a la fatiga más abundantes en la región más cercana a la cavidad orbitaria -capa orbital- (Leigh y Zee, 2006).

1.2.1.2.2 Comportamiento de las motoneuronas extraoculares

Las motoneuronas que controlan la musculatura extraocular, se agrupan en tres núcleos motores que se localizan en el tronco del encéfalo. Concretamente, en el núcleo del motor ocular común, se encuentran las motoneuronas que inervan a los músculos recto medial, recto inferior y oblicuo superior homolaterales, y al recto superior y al elevador del párpado contralaterales. El núcleo troclear inerva mayoritariamente al oblicuo superior contralateral, con escasa inervación sobre el oblicuo superior homolateral. El núcleo del motor ocular externo, inerva principalmente al músculo recto lateral, existiendo en algunas especies una pequeña proporción de motoneuronas que inervan al músculo *retractor bulbi*. Junto con estos tres núcleos principales, muchos vertebrados presentan un núcleo, el motor ocular externo accesorio, en el que se encuentran las motoneuronas que inervan al *retractor bulbi*.

Todas las motoneuronas extraoculares actúan de manera similar. Integran la información que reciben de las neuronas premotoras, y producen patrones de disparo fásicos y tónicos, que codifican la velocidad y posición del ojo, respectivamente (Robinson, 1964). En relación a los movimientos oculares, cada motoneurona presenta una dirección de activación, siendo la tasa de disparo fásica que desarrollan, directamente proporcional al pico de

velocidad del movimiento en dicha dirección. Cuando el movimiento se desarrolla en la dirección de inactivación, la motoneurona realiza una pausa durante la ejecución del movimiento. Durante las fijaciones, las motoneuronas presentan un patrón de disparo tónico, cuya frecuencia guarda una relación lineal con la posición del ojo en la órbita, incrementando en la dirección de activación (Fuchs y Luschei, 1970; Delgado-García y col., 1986; McCrea y col., 1986).

Dada la organización anatómica de la musculatura extraocular, la ejecución de los movimientos oculares requiere de la activación e inhibición fásica de los diferentes pares de músculos antagónicos. Las entradas fásicas a las motoneuronas extraoculares, provienen de las neuronas de brote excitador e inhibidor, las cuales producen brotes de potenciales de acción antes y durante la ejecución de los movimientos oculares. Las neuronas de brote excitador, que intervienen en la generación de sacádicos horizontales, se localizan a nivel del núcleo reticular oral del puente (Grantyn y col., 1980; Igusa y col., 1980; Sasaki y Shimazu, 1981; Strassman y col., 1986a; Escudero y Delgado-García, 1988; Hepp y col., 1989), mientras que las implicadas en la generación de movimientos verticales y torsionales, se localizan en el núcleo rostral intersticial del fascículo longitudinal medial (Büttner y col., 1977; Villis y col., 1989; Crawford y Vilis, 1992). Las neuronas de brote inhibidor, implicadas en la generación de movimientos en el plano horizontal, se localizan en la formación reticular dorso-medial del bulbo (Langer y col., 1986; Strassman y col., 1986b; Escudero y Delgado-García, 1988; Scudder y col., 1988), mientras que las implicadas en los movimientos verticales y torsionales, se localizan en el núcleo rostral intersticial del fascículo longitudinal medial (Spencer y Wang, 1996).

Una vez que se alcanza la diana, las motoneuronas deben mantener una tasa de disparo tónica que permita conservar la posición del ojo en la órbita. La entrada premotora responsable de este comportamiento, se produce a nivel de circuitos de neuronas que permiten la integración de la señal de velocidad, generando la señal de posición ocular. Estos circuitos se localizan a nivel del núcleo *prepositus hypoglossi* en el caso de la señal de posición para el plano horizontal (Lopez-Barneo y col., 1982; Delgado-García y col., 1989; Escudero y col., 1992; Moschovakis, 1997) y en el núcleo intersticial de Cajal, en el caso de los movimientos en el plano vertical (Fukushima, 1987; Fukushima y col., 1992). Junto con las señales procedentes de estos generadores de posición, las motoneuronas reciben una señal tónica de velocidad desde los núcleos vestibulares, que es proporcional a la velocidad de la cabeza (Highstein y McCrea, 1988; Highstein y Holstein, 2006).

1.2.1.2.3 Los movimientos oculares durante la vigilia

La actividad ocular durante los periodos de vigilia, se caracteriza por la presencia de fijaciones que se alternan con la ejecución de movimientos, asociados principalmente con la estimulación procedente de la vía visual y vestibular. Los tipos de movimientos oculares que se desarrollan durante la vigilia, pueden clasificarse como reflejo vestíbulo-ocular, reflejo optocinético, movimientos sacádicos, seguimientos y vergencias. En la escala filogenética, los reflejos vestíbulo-ocular y optocinético fueron los primeros en desarrollarse, ante la necesidad de mantener estable la imagen sobre la retina, en respuesta a los desplazamientos de la cabeza en el medio. La progresiva especialización de la retina con la aparición de una región de mayor agudeza visual denominada fovea, motivó la aparición de los movimientos sacádicos, de seguimiento y vergencias, con los que dirigir la fovea hacia los objetos de interés en el campo visual (Dodge, 1903). No obstante, en animales afoveados, como la rata o el conejo, se mantiene la capacidad de ejecutar movimientos sacádicos, que se desarrollan en asociación a movimientos de la cabeza (Collewijn, 1977; Fuller, 1980 y 1985; Escudero y Vidal, 1996).

Los movimientos oculares que se desarrollan durante la vigilia, tienen en común que la relación entre la amplitud, el pico de velocidad y la duración del movimiento, siguen una relación lineal. El rango de valores de esta relación es lo que se conoce como secuencia principal (Boghen y col., 1974; Bahill y col., 1975) y es un parámetro característico de cada especie.

1.2.1.2.4 Los movimientos oculares durante la fase NREM

Durante el periodo de vigilia, la velocidad y número de movimientos oculares descienden progresivamente con el incremento de la somnolencia. El paso a la fase NREM se caracteriza por el cese de la actividad ocular fásica y el desarrollo de movimientos lentos y erráticos. Descritos en primer lugar en humanos (Aserinsky y Kleitman, 1953 y 1955), este comportamiento parece ser una tendencia general en mamíferos y se ha confirmado en el mono (Fuchs y Ron, 1968; Henn y col., 1984), el gato (Fukushima y Fukushima, 1990; Vanni-Mercier y col., 1994; Márquez-Ruiz y Escudero, 2008) y el cobaya (Escudero y Vidal, 1996). No obstante, existen algunas discrepancias en la literatura sobre la tendencia de estos movimientos erráticos. Durante la fase NREM, la supraducción de los ojos que está descrita en el mono (Fuchs y Ron, 1968) y en la preparación *encéphale isolé* del gato (Bon y col., 1980), contrasta con la infraducción y abducción registradas en el cobaya (Escudero y Vidal, 1996).

Por otra parte, en el gato también se ha comunicado la presencia de una tendencia variable en la posición vertical del ojo (Vanni-Mercier, 1994), y una abducción sostenida (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), similar a la del cobaya.

Mientras que estas discrepancias pueden ser el resultado de las diferencias entre especies o entre las técnicas de registro, se acepta que el desarrollo de la actividad ocular durante la fase NREM, es el resultado de la relajación de los músculos extraoculares, como se deduce del descenso de actividad de las motoneuronas extraoculares, así como de las neuronas premotoras, registradas en el mono (Henn y col., 1984; Fukushima y Fukushima, 1990) y en el gato (Delgado-García y col., 1986; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008).

1.2.1.2.5 Los movimientos oculares durante la fase REM

Como se comentó anteriormente, a pesar de constituir uno de los principales signos que definen y dan nombre a la fase REM, el conocimiento de los movimientos oculares durante esta fase, continúa siendo limitado casi 65 años después de su descubrimiento (Aserinsky y Kleitman, 1953 y 1955). Los primeros estudios sobre los movimientos oculares en la fase REM, registrados mediante electro-oculografía (EOG), describieron que estos movimientos eran similares a los de vigilia (Weitzman, 1961; Roffwarg y col., 1962; Jeannerod y col., 1965; Herman y col., 1983). Esta similitud, junto con el contenido de las ensoñaciones de esta fase (Blake y col., 1939), llevaron a proponer que la actividad oculomotora durante la fase REM, era el resultado de la exploración de la imaginería visual asociada a la ensoñación (Dement y Kleitman, 1957a y b; Dement y Wolpert, 1958; Berger y Oswald, 1962; Roffwarg y col., 1962; Herman y col., 1983). No obstante, estudios posteriores con la técnica del seguidor magnético de la posición ocular (Fuchs y Robinson, 1966), plantearon dudas sobre estas interpretaciones, al demostrar que las actividades fásicas y tónicas durante la fase REM, eran muy diferentes a las de la vigilia (Fuchs y Ron, 1968; Vanni-Mercier y col., 1994; Escudero y Vidal, 1996; Zhou y King, 1997; Márquez-Ruiz y Escudero, 2008).

Concretamente, la actividad fásica durante REM, se compone de brotes de movimientos con una alta ritmicidad (7-10 Hz), que producen trayectorias circulares en el movimiento del ojo (Fuchs y Ron, 1968; Escudero y Vidal, 1996). Estos movimientos rápidos, son complejos y están formados por dos componentes consecutivos y de dirección opuesta, cuya ocurrencia coincide con la presencia de ondas PGO (Escudero y Márquez-Ruiz, 2008; Márquez-Ruiz y Escudero 2008). Existe una gran controversia sobre las propiedades dinámicas de estos

movimientos y, distintos autores han propuesto que la relación velocidad-amplitud de los movimientos oculares durante la fase REM puede ser igual (Zhou y King, 1997), mayor (Vanni-Mercier y col., 1994; Escudero y Vidal, 1996; Márquez-Ruiz y Escudero 2008) o menor (Fuchs y Ron, 1968) que durante la vigilia.

Por otra parte, los estudios con la técnica del seguidor magnético de la posición ocular, también han revelado la existencia de fenómenos tónicos, consistentes en una tendencia a la infraducción y convergencia de los ojos, que se mantiene durante la fase REM en el mono (Zhou y King, 1997) y el gato (Márquez-Ruiz y Escudero 2008). No obstante, dado que estos estudios se realizaron en especies de visión frontal, se desconoce si estas tendencias son comunes a los animales con ojos laterales o están influenciadas por la anatomía de la musculatura extraocular.

Cabe destacar, que el único estudio que hasta la fecha combina la técnica del seguidor magnético con el registro de unidades, ha demostrado que tanto la tendencia tónica como los fenómenos fásicos durante la fase REM, son el resultado de una inhibición tónica y patrones consecutivos de inhibiciones y activaciones fásicas de las motoneuronas extraoculares (Escudero y Márquez-Ruiz, 2008). Este tipo de actividad, se asemeja a lo anteriormente descrito para otras poblaciones de motoneuronas durante la fase REM (Glenn y col., 1978; Chase y Morales; 1983; Glenn y Dement; 1985), por lo que la actividad del sistema oculomotor no parece necesariamente relacionada con la exploración visual.

1.2.2 Actividades tónicas y fásicas de la actividad EEG

La presencia de corrientes eléctricas en el cerebro y sus variaciones con los cambios de comportamiento, se describió, por primera vez, en los trabajos de Richard Caton (1875). No obstante, no fue hasta las primeras décadas del s. XX cuando Hans Berger caracterizó la naturaleza oscilatoria de estas corrientes en el ser humano y acuñó el término electroencefalograma (Berger, 1929). Desde estas primeras descripciones, el EEG se ha convertido en una de las principales herramientas para el estudio de la actividad cerebral.

1.2.2.1 Origen y propiedades de la actividad EEG

Las corrientes eléctricas que se registran en el EEG, tienen su origen en los cambios de potencial que experimentan las poblaciones de células excitables que componen el cerebro.

Específicamente, el aporte predominante a la señal EEG, proviene de las células piramidales, las cuales, por su número y disposición en la corteza cerebral, son captadas con mayor facilidad por los electrodos de registro (Kropotov, 2009).

Las células piramidales, son neuronas con una fuerte polarización anatómica, que se disponen perpendicularmente a la superficie de la corteza cerebral. Su soma se localiza en la región basal y de él parten numerosas dendritas basales de escaso alcance y una dendrita de mayor longitud que se dirige hacia la capa más superficial de la corteza. Esta disposición hace de la célula piramidal un dipolo eléctrico, ya que la apertura de canales en la dendrita apical, genera un desbalance de cargas que la hacen negativa respecto del soma, mientras que la apertura de canales en las dendritas basales, genera un polo negativo en la región del soma, respecto de la dendrita apical.

La señal EEG que se registra desde la superficie de la corteza, es el resultado de la suma de miles de dipolos generados por la actividad colectiva de las células piramidales. Por tanto, la visualización de cargas desde la superficie, no solo requiere de la orientación anatómica de las células piramidales, sino de la sincronización de éstas, para producir una polaridad neta en la superficie cortical. A su vez, los cambios cíclicos producidos en la orientación de los dipolos, como resultado de la apertura y cierre de canales, generan variaciones cíclicas de la amplitud de la señal, que se traduce como oscilaciones del potencial eléctrico que se registra en la superficie.

Las oscilaciones de voltaje se pueden caracterizar en base a tres parámetros: 1) la frecuencia, determinada por el número de repeticiones o ciclos que se producen por unidad de tiempo, comúnmente expresada en hertzios o ciclos por segundo; 2) la amplitud o magnitud de la variación máxima con respecto al valor de referencia; y 3) la fase o momento de ocurrencia de los picos de amplitud respecto de un instante de referencia, habitualmente expresada en grados o radianes.

Clásicamente, las oscilaciones del EEG se han ido nombrado por el orden de su descubrimiento, mediante una letra griega que engloba a las oscilaciones que se registran en un mismo rango de frecuencias. De esta forma, alfa (8-13 Hz), beta (10-30 Hz), gamma (30-80 Hz), delta (1,5-4 Hz) y theta (4-10 Hz), fueron las primeras en ser descritas, si bien coexisten con otras bandas descubiertas posteriormente. Los diferentes tipos de oscilaciones también se han identificado en base a su presencia en regiones concretas de la corteza y por su asociación a tareas o estados concretos. Con pequeñas variaciones específicas, el contenido en frecuencia

de estas bandas es común al grueso de especies de mamíferos estudiadas, siendo la presencia y amplitud de unos u otros tipos de oscilaciones, representativa de cada estado de alerta.

1.2.2.2 Características del EEG durante la fase REM

Durante la caracterización de la fase REM en el gato, Jouvet y colaboradores (1959) llamaron a este periodo *sommeil paradoxal*, en alusión a lo paradójico de la actividad EEG, cuyo perfil de frecuencia y amplitud resultaba indistinguible del EEG de vigilia, a pesar de los cambios evidentes de comportamiento. Posteriormente, esta similitud entre el EEG de la fase REM y de la vigilia, se ha confirmado en todas las especies de mamíferos estudiadas (Siegel, 2009).

La actividad EEG, durante la vigilia y la fase REM, se caracteriza por la presencia de oscilaciones rápidas y de escasa amplitud. Este perfil es el resultado de la activación del tronco del encéfalo, con el consiguiente predominio de las entradas excitadoras a la corteza a través del sistema activador ascendente, que origina sincronización de las células piramidales en áreas corticales que presentan relación funcional (Brown y col., 2012). Durante los estados activos, se desarrollan también oscilaciones de menor frecuencia entre las que destaca el ritmo theta.

1.2.2.2.1 El ritmo theta

Consistente en una oscilación regular y de gran amplitud que, según la especie, varía entre 4 y 7 Hz en el humano, el gato y el conejo, y entre 6 y 10 Hz en la rata y el ratón (Steriade y McCarley, 2005), el ritmo theta constituye una de las principales características de los estados de activación en mamíferos y el principal componente tónico del EEG durante la fase REM (Grastyán y Karmos, 1961; Dement, 1969; Robinson y col., 1977; Steriade y McCarley, 2005; Brown y col., 2012; Zhang y col., 2016). Durante la vigilia, la actividad theta se ha relacionado con diferentes tipos de tareas, como procesamiento de información, aprendizaje (Elazar y Adey, 1967; Landfield y col. 1972; Hsieh y Ranganath, 2014), mantenimiento de la atención (Green y Arduini, 1954) navegación espacial y ejecución de actividades motoras no reflejas (Buzsáki y Moser, 2013; Agarwal y col., 2014; Zhang y col., 2016). Durante la fase REM, se acepta que el ritmo theta se desarrolla como una actividad tónica que se mantiene a lo largo de cada episodio (Robinson y col., 1977).

Con origen en la región septo hipocampal (Petsche y col., 1962), el ritmo theta se ha estudiado ampliamente en roedores, en los que constituye un claro componente de la señal EEG, debido a la localización del hipocampo, próximo a la superficie dorsal del cerebro. El estudio del ritmo theta en roedores, ha revelado la existencia de dos tipos de oscilaciones, que son producidas por diferentes conductancias iónicas, durante la vigilia. Las oscilaciones entre 4 y 7 Hz, características de la vigilia inmóvil, y las oscilaciones entre 7 y 12 Hz, que se han relacionado con los periodos de movimiento (Kramis y col., 1975). Durante la fase REM, la actividad theta parece estar formada por una mezcla de estos dos tipos de actividad, de modo que hay una oscilación continua similar al ritmo theta lento de la vigilia inmóvil, y periodos de mayor frecuencia, correspondientes al ritmo theta, más rápido, de la vigilia activa (Robinson y col., 1977). La presencia de estos incrementos de frecuencia, se ha descrito durante la ocurrencia de eventos fásicos como grupos de movimientos oculares, ondas PGO, fasciculaciones musculares y cambios en la regularidad y frecuencia de los ritmos cardíaco y respiratorio (Sakai y col., 1973; Sano y col., 1973; Robinson y col., 1977; Lerma y Garcia-Ausst, 1985; Sei y Morita, 1996; Rowe y col., 1999; Karashima y col., 2004 y 2005).

Esta relación, no resulta sorprendente si se considera que la producción del ritmo theta se controla desde la misma región que también está implicada en la mayoría de eventos fásicos que se desarrollan durante la fase REM. Los estudios de estimulación eléctrica, han revelado que el control de la actividad theta del hipocampo ocurre principalmente por la actividad de neuronas glutamatérgicas, de disparo tónico, del núcleo reticular oral del puente (Vertes, 1979; Vertes, 1981; Nuñez y col., 1991; Vertes y col. 1993; Vertes y Kocsis, 1997). Este disparo tónico se transforma en un patrón rítmico a nivel de las neuronas glutamatérgicas del núcleo supramamilar (Kirk y McNaughton, 1991; Kocsis y Vertes, 1994; Bland y col., 1995 ; Kirk y col., 1996). A su vez, las neuronas del núcleo supramamilar activan a neuronas colinérgicas y GABAérgicas del septo medial, que parecen actuar como marcapasos, regulando la producción de theta en el hipocampo (Borhegyi y col., 2004) a través de proyecciones sobre las células piramidales y las interneuronas inhibitoras (Mosko y col., 1973; Buzsáki y col. 1983). Este control de las neuronas del septo medial, parece implicar también a las neuronas glutamatérgicas de la región dorsal al LC, cuya actividad se cree necesaria para la generación del ritmo theta durante la fase REM (Lu y col., 2006b).

No obstante, la producción del ritmo theta en el hipocampo no está determinada únicamente por la actividad del septo medial, como sugieren las entradas procedentes de la corteza entorrinal (Buzsáki y col. 1983), cuyas neuronas disparan en fase con el ritmo theta (Alonso y García-Ausst, 1987a y 1987b). Estudios basados en la lesión de la corteza entorrinal,

han demostrado la necesidad de esta proyección en la producción del ritmo theta, durante los comportamientos exploratorios en la rata. Estos resultados, sugieren que el ritmo theta en el hipocampo no es consecuencia de la actividad de un marcapasos único, sino el resultado de las interacciones entre diferentes osciladores (Steriade y McCarley, 2005; Colgin, 2013). En este sentido, estudios *in vitro*, han mostrado que el ritmo theta puede generarse en ausencia del septo medial (Goutagny y col., 2009), sugiriendo que también puede ser consecuencia de las interacciones locales entre interneuronas y células piramidales (Colgin, 2013).

Finalmente, pese a la importancia que el componente del hipocampo tiene sobre la señal EEG como consecuencia de los fenómenos de conducción de volumen, la presencia de neuronas que disparan en el rango de theta en la corteza entorrinal (Alonso y García-Ausst, 1987a y 1987b) y cingulada (Borst y col., 1987; Leung y Borst, 1987), implica que, al menos parte de la señal EEG en el rango theta, tiene un origen cortical.

1.2.2.2.2 Gamma y alta frecuencia

Las actividades gamma (30-100 Hz) y las oscilaciones de alta frecuencia en el rango entre 110 y 160 Hz, constituyen las principales componentes rápidas del EEG durante los estados activos.

Las oscilaciones gamma se han descrito, clásicamente, como actividades desincronizadas del EEG, que se desarrollan de forma tónica durante la vigilia y la fase REM. Durante la vigilia, las oscilaciones gamma aparecen de forma constitutiva, se desarrollan en amplias regiones corticales y se ven incrementadas por la presentación de estímulos sensoriales. El mecanismo por el que se cree que se desarrollan las oscilaciones gamma, tanto durante vigilia como durante la fase REM, se basa en la actividad de una subpoblación de interneuronas GABAérgicas, que contienen parvalbúmina, y que hacen sinapsis sobre el soma y cono axónico de las células piramidales, de las que reciben entradas excitadoras (Fisahn y col., 1998; Whittington y col., 2000; Börgers y col., 2005; Brown y col., 2012). A su vez, las interneuronas inhibitoras se encuentran acopladas mediante sinapsis eléctricas y químicas. Este tipo de organización, no solo favorece la sincronía de las interneuronas en la generación del ritmo gamma, sino que se cree que juega un papel fundamental en la organización de las oscilaciones gamma, las cuales sufren variaciones transitorias de amplitud, que se puede acoplar a la fase del ritmo theta (Brown y col., 2012).

Las evidencias experimentales que sustentan el papel de las interneuronas GABAérgicas en la generación de theta, incluyen el bloqueo de las oscilaciones gamma *in vitro*, en respuesta a la presencia de antagonistas GABAérgicos (Whittington y col., 1995; Fisahn y col., 1998). A sí mismo, se ha demostrado *in vivo*, que las interneuronas GABAérgicas, que contienen parvalbúmina, disparan en el mismo rango de frecuencia y en fase con las oscilaciones gamma (Bragin y col., 1995; Tukker y col., 2007; Puig y col., 2008). Por otra parte, la estimulación específica de las interneuronas con parvalbúmina puede generar oscilaciones gamma, mientras que su inhibición las bloquea (Cardin y col., 2009; Sohal y col., 2009).

Actualmente, la visión más extendida, contempla a las oscilaciones en el rango de gamma, como el resultado de la actividad simultánea de múltiples osciladores, que permiten la interacción de redes neuronales que procesan información relacionada, y conducen a la integración temporal y al procesamiento en paralelo de la información (Llinás y Ribary, 1993; Fries y col., 2007; Colgin y col., 2009). En este sentido, se ha demostrado que la integración temporal de las oscilaciones gamma en áreas corticales específicas, se produce como resultado del acoplamiento a la fase del ritmo theta, el cual varía en función de las tareas que se ejecutan durante los periodos de vigilia (Canolty y col., 2006). El acoplamiento de la actividad gamma al ritmo theta, durante la vigilia y la fase REM, es un fenómeno bien caracterizado en la corteza y en el hipocampo (Canolty y col., 2006; Belluscio y col., 2012; Brankač y col., 2012). Este acoplamiento es mayor durante la fase REM y consistente con un incremento de coherencia en la banda gamma (Colgin y col., 2009). Se ha sugerido que el incremento de la coherencia de las oscilaciones gamma durante la fase REM, favorecería el trasvase de información desde el hipocampo a la corteza, y podría jugar un papel en la consolidación de la memoria que se asocia a esta fase (Montgomery y col., 2008).

Como se ha mencionado anteriormente, este acoplamiento se consigue mediante incrementos transitorios de la amplitud de las oscilaciones gamma que ocurren en fase con el ritmo theta (Montgomery y col., 2008; Brankač y col., 2012). En este sentido, los brotes de actividad gamma se deben considerar más como activaciones fásicas, que como actividades tónicas, como clásicamente se han interpretado.

Las oscilaciones gamma pueden coexistir con las oscilaciones de alta frecuencia que también están asociadas a theta (Tort y col., 2008; Scheffzük y col., 2011; Scheffer-Teixeira y col., 2012). De hecho, las altas frecuencias se han descrito en algunos estudios como gamma rápido (Jackson y col., 2011; Scheffzük y col., 2011). No obstante, esta terminología puede generar confusión, ya que, incluso por debajo de los 100 Hz, también se ha descrito la

existencia de dos oscilaciones gamma de diferente frecuencia y que son diferentes de la de alta frecuencia (Tort y col., 2008, 2010 y 2013; Colgin y col., 2009; Belluscio y col., 2012).

Pese a que tanto gamma como las oscilaciones de alta frecuencia presentan acoplamiento con theta en la corteza y en el hipocampo, los registros con un solo electrodo, muestran que, ambos tipos de oscilaciones, difieren en la relación de fase con theta, de modo que gamma alcanza su pico máximo de amplitud varios grados antes que las oscilaciones de alta frecuencia (Tort y col., 2008; Scheffzük y col., 2011; Scheffer-Teixeira y col., 2012). En base a este cambio de relación, se ha sugerido que ambas oscilaciones se producen como resultado de diferentes mecanismos (Tort y col., 2013).

Por otra parte, a diferencia de las oscilaciones gamma, las oscilaciones de alta frecuencia son insensibles al bloqueo de los receptores de glutamato tipo NMDA y AMPA/kainato (Jackson y col., 2011), lo que constituye otra evidencia de la independencia de estos dos tipos de oscilación. El hecho de que la generación de las oscilaciones de alta frecuencia sea insensible al bloqueo del glutamato, implica que el mecanismo de generación no está basado en el bucle de excitación e inhibición entre células piramidales e interneuronas inhibitorias, como en el caso de gamma (Fisahn y col., 1998; Whittington y col., 2000; Börgers y col., 2005; Whittington y col., 2011). En este sentido, en experimentos *in vitro*, se han generado oscilaciones de alrededor de 150 Hz, que, en ausencia de actividad theta, muestran de gran similitud con las oscilaciones de alta frecuencia (Traub y col., 2002 y 2003). En base a estos resultados, se ha hipotetizado que la generación de esta actividad de alta frecuencia es el resultado de un plexo axonal, acoplado mediante sinapsis eléctricas (Traub y col., 2002 y 2003; Traub, 2003).

Además del cambio en la relación de fase con theta y la diferente respuesta farmacológica de ambos tipos de oscilación, otra evidencia que se ha usado para desvincular gamma de las oscilaciones de alta frecuencia, es la localización del acople con theta en el hipocampo. El registro en diferentes capas de hipocampo, ha revelado que el acoplamiento de theta y alta frecuencia se da en las capas más superficiales, mientras que el acoplamiento theta-gamma ocurre en estratos más profundos (Scheffzük y col., 2011; Scheffer-Teixeira y col., 2012).

Existen evidencias de que a lo largo del ciclo vigilia-sueño, el acoplamiento entre theta y las oscilaciones de alta frecuencia se ve potenciado durante la fase REM (Scheffzük y col., 2011; Tort y col., 2013), de forma similar a como ocurre con gamma (Branckack y col., 2012). Considerando las funciones que se atribuyen a la fase REM en los procesos de consolidación de

la memoria (Diekelmann y Born; 2010), algunos autores han propuesto que las oscilaciones de alta frecuencia también pueden jugar un papel importante en estos procesos (Tort y col., 2013).

El comportamiento de la amplitud de las oscilaciones de alta frecuencia en relación al ritmo theta, justifican que al igual que con las oscilaciones gamma, este nuevo tipo de oscilación sea considerado como un fenómeno fásico de la fase REM.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

La identificación de variables y el análisis de los cambios de actividad en esas variables, ha constituido el principal abordaje para estudiar el ciclo vigilia-sueño. Durante el sueño, las variables más representativas han sido la actividad electroencefalográfica, sobre la que se ha apoyado la identificación de los procesos que tienen lugar durante la fase NREM y las actividades electroencefalográfica, muscular y oculomotora, que se han usado, en conjunto, para la identificación de los procesos durante la fase REM del sueño.

En base a estas variables, la fase REM se ha identificado por la coexistencia de aspectos fásicos y tónicos, y el estudio de estos aspectos, y el de los mecanismos responsables de su generación, han contribuido en gran medida a la comprensión de este estado y han alentado la aparición de numerosas teorías sobre su función.

No obstante, las lagunas en el conocimiento de algunas de estas variables, el refinamiento y desarrollo de nuevas técnicas de estudio y análisis, y el cambio de los modelos de experimentación animal, ponen de manifiesto la necesidad de revisar, actualizar, adaptar y profundizar, el conocimiento de las actividades tónicas y fásicas que caracterizan la fase REM.

Por ello, el objetivo general de la presente Tesis Doctoral, ha sido la caracterización de los aspectos tónicos y fásicos de la fase REM en la rata.

Los objetivos concretos han sido:

1. Caracterizar los movimientos oculares durante la fase REM y compararlos con los que ocurren en otros estados de alerta.
2. Caracterizar el desarrollo de las actividades tónicas y fásicas del sistema oculomotor, durante el periodo de transición a la fase REM.
3. Diseñar y desarrollar una técnica de registro de los movimientos oculares, que permitiera la identificación de los fenómenos fásicos y tónicos en el sistema oculomotor, sin la necesidad de inmovilizar y entrenar al animal.
4. Estudiar el desarrollo de actividades tónicas y fásicas en el EEG durante el periodo de transición a la fase REM, y analizar su relación temporal con el de otras actividades tónicas y fásicas.
5. Estudiar las actividades theta, como principal aspecto tónico, y de alta frecuencia (110 - 160 Hz), como principal aspecto fásico, en el EEG durante la fase REM y caracterizar la relación entre ambas.
6. Estudiar el origen de la actividad de alta frecuencia

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Preparación del animal crónico

Se utilizaron un total de 91 ratas adultas de la cepa Wistar, que se obtuvieron de distribuidores autorizados de las Universidades de Sevilla y Granada, y de Harlan Laboratories, San Feliu de Codines. Todos los experimentos se ajustaron a la directiva actual de la Unión Europea (2010/63/EU), la normativa española (RD 53/2013) para la protección de animales de experimentación y las indicaciones del Comité Ético de Experimentación de la Universidad de Sevilla.

3.1.1 Anestesia, preoperatorio y generalidades quirúrgicas

La preparación de cada animal se llevó a cabo en una o dos sesiones quirúrgicas. En este último caso las sesiones se espaciaron entre sí no menos de una semana. En cada sesión se anestesió al animal con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico 60 mg/kg.

En la primera de las intervenciones, una vez anestesiado el animal, se afeitó la parte superior de la cabeza y del cuello, se lavó la zona con etanol 70% v/v diluido en agua y se desinfectó con una solución yodada (Betadine, MEDA pharma, España). Hecho esto, se montó al animal en un marco estereotáxico DKI-900 (David Kopf Instruments, EE.UU.) en el que el cero estereotáxico quedó determinado por el punto medio entre las dos barras que se introdujeron en los meatos auditivos. La orientación de la cabeza se determinó por el plano formado entre el cero estereotáxico y una barra sobre la que se apoyaron el paladar y la superficie oral de los incisivos. Se colocó al animal sobre una manta eléctrica y se monitorizó la temperatura rectal a lo largo de toda la cirugía, manteniendo la temperatura en 38 °C. Se practicó una incisión longitudinal de la piel de la cabeza, a lo largo de la línea media, que se extendió desde 5 mm por delante de la sutura fronto-parietal, hasta exponer la región más caudal del músculo *levator auris longus*. Se bañó la herida en lidocaína 5% (Braun), tras lo que se procedió a retirar todo el tejido conjuntivo de la zona de trabajo, dejando al descubierto el cráneo entre las crestas parieto-temporales.

En la segunda intervención, que se realizó únicamente en aquellos animales empleados para el registro de la posición ocular, tras anestesiarse al animal y fijarlo al marco estereotáxico, se procedió a desinfectar la periferia del ojo con una solución yodada. Se aplicó anestésico local en forma de colirio (Colicursí Anestésico Doble, Alcon Cusí S.A., España) para insensibilizar

la superficie del globo ocular y los tejidos anejos. También se aplicó un vasoconstrictor (Colicursí Atropina 1%, Alcon Cusí S.A., España) para reducir el posible sangrado durante la intervención.

3.1.2 Implantación de electrodos para el registro de la actividad electroencefalográfica

Para registrar y caracterizar la actividad cortical, se implantaron electrodos intracraneales epidurales, en un total de 18 localizaciones que se repartieron entre los huesos frontales, los parietales y el interparietal (figura 3-1A). Los electrodos se fabricaron a partir de hilo de plata de 380 μm de grosor (A-M Systems, EE.UU.), en los que se fundió un extremo hasta formar una esfera de aproximadamente 0,5 mm de diámetro. Con el propósito de aislarlos eléctricamente, los electrodos se introdujeron en una funda de silicona (A-M Systems, EE.UU.) y se dejaron ambos extremos descubiertos.

A partir de coordenadas estereotáxicas, se realizaron trépanos hasta exponer las meninges sobre las localizaciones de registro. El extremo esférico de cada electrodo se introdujo en una de estas localizaciones, hasta entrar en contacto con la duramadre, y se fijó al cráneo mediante resina acrílica (figura 3-1B).

3.1.3 Implantación de electrodos usados como referencia

Como puntos de referencia eléctrica se implantaron un electrodo de tierra y otro de referencia, que se fabricaron del mismo modo que los electrodos de EEG. Según el experimento, en parte de los animales, estos electrodos se implantaron a nivel parietal, en una ubicación lateral al resto de electrodos; en otro grupo, se implantaron a nivel caudal, en contacto con el vermis del cerebelo; y, en un último grupo, la referencia eléctrica consistió en un hilo de plata de 380 μm de grosor que rodeó el cráneo a modo de corona.

3.1.4 Implantación de electrodos para el registro de la actividad electromiográfica

A todos los animales se les implantaron electrodos para el registro de la actividad eléctrica de uno o ambos músculos acromiotrapeacios. Para ello, se emplearon cables de 7 cm de acero inoxidable, compuestos por siete hilos trenzados y recubiertos de teflón a modo de aislante (A-M Systems, EE.UU.), con un diámetro total de 0,23 mm. Para proceder a su

implantación, se desnudaron 2 mm de cada extremo del cable, y se destrenzaron los hilos de uno de los extremos. Los hilos de este extremo se hicieron pasar por el interior de una aguja hipodérmica de 0,5 mm de diámetro, hasta asomar por el extremo afilado, en torno al cual se doblaron a modo de garfios. Empleando las agujas hipodérmicas como aplicadores, se introdujeron dos electrodos en cada músculo, separados entre sí de 1 a 2 mm. De esta forma la actividad de cada acromiotrapecio se registró de modo diferencial entre cada par de electrodos del mismo músculo. Una vez los electrodos estuvieron en su posición final, se extrajeron las agujas, quedando sujetos al músculo por los garfios, y ambos electrodos se fijaron a su salida del músculo mediante un punto de sutura a la fascia (figura 3-1C). Tras doblar el cable sobre sí mismo, formando un bucle para amortiguar las flexiones debidas al movimiento del animal y evitar que los movimientos ejercieran tensión sobre el extremo implantado en el músculo, los electrodos se guiaron por vía subcutánea hasta un conector situado en la cabeza.

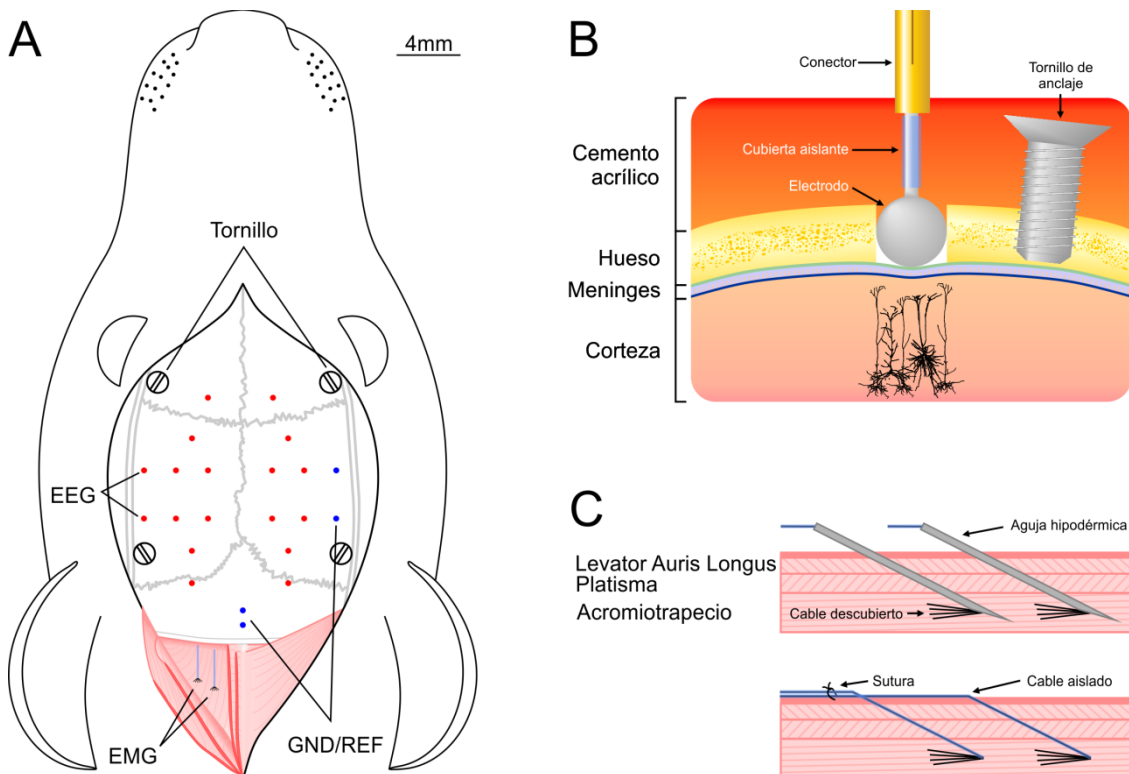


Figura 3-1. Preparación de la rata para el registro crónico de la actividad polisomnográfica
 A. Esquema de la vista dorsal de la cabeza de una rata en que se representa la localización de los electrodos de registro del EEG (puntos rojos), tierra y referencia (puntos azules), electrodos para el registro de la actividad de la musculatura del cuello (EMG) y tornillos de anclaje al cráneo. B. Representación esquemática de la localización final de un electrodo de registro de EEG sobre las meninges y su fijación a un tornillo de anclaje mediante cemento acrílico. C. Representación del proceso de implantación de los electrodos de registro de la señal EMG en el músculo acromiotrapecio, mediante agujas hipodérmicas (arriba) y su disposición final tras fijarlos a la fascia mediante sutura (abajo).

3.1.5 Implantación de electrodos intracerebrales

En aquellos animales en que se abordaron estructuras subcorticales, se implantaron electrodos profundos bipolares. Estos electrodos se fabricaron a partir de varillas de acero inoxidable o tungsteno aisladas eléctricamente, cuyo diámetro final fue inferior a los 280 μm . La cubierta de aislante se retiró unos 250-500 μm en el extremo y éste extremo se afiló hasta formar una punta cónica que ofreciera poca resistencia y produjera el menor daño posible durante la penetración en el tejido.

Los electrodos se desinfectaron con una solución etílica y se implantaron en las coordenadas estereotáxicas seleccionadas. Una vez en su localización final, se fijaron al cráneo con ayuda de resina acrílica.

3.1.6 Implantación del sistema de sujeción de la cabeza y de los conectores para el sistema de registro

Para dar mayor solidez a la preparación, se fijaron al cráneo un total de cuatro tornillos de 1,5x4,5 mm (J.I. Morris, EE.UU.) que actuaron como puntos de anclaje en las crestas laterales de los huesos frontales y parietales. Los tornillos se unieron entre sí y al resto de electrodos mediante resina acrílica. En aquellos experimentos en que fue necesario fijar la cabeza del animal, se fijaron, también mediante resina acrílica, uno o dos tornillos de 3x12 mm perpendiculares al plano estereotáxico.

Los extremos libres de cada electrodo se soldaron a los diferentes canales de un conector chapado en oro (RS-Amidata, España). Los puntos de soldadura, así como la base del conector, se cubrieron con resina acrílica, que los unió al resto de la preparación, dando forma a la torreta de registro. Finalmente, se cerró la piel en torno a la torreta mediante puntos de sutura.

3.1.7 Implantación de las bobinas periorbitales para la detección de la posición ocular

El registro de los movimientos oculares se realizó mediante la técnica del seguidor magnético de la posición ocular (Fuchs y Robinson, 1966), así como mediante una variante de esta técnica (Sánchez-López y Escudero, 2015), que se desarrolló (ver resultados) para permitir el registro de los movimientos oculares sin inmovilizar al animal, como requiere la técnica original.

En ambos casos, el abordaje quirúrgico fue el mismo, tras anestesiarse al animal y aplicar al ojo los fármacos anteriormente indicados, se procedió a implantar una bobina de 6,1-6,4 mm de diámetro, que se fabricó con hilo de plata aislada con teflón de 115 µm de diámetro. Tras retirar el tejido conjuntivo con ayuda de unas micro-tijeras oftálmicas, se fijó la bobina a la esclerótica del globo ocular mediante cuatro puntos de sutura. Posteriormente, los puntos de sutura, se cubrieron con el conjuntivo previamente retirado y los extremos de la bobina se guiaron, vía subcutánea, hasta el canto anterior de la torreta de registro, donde se soldaron a un conector que se fijó con resina acrílica al resto de la torreta. Finalmente, se aplicó un antibiótico tópico (Colicursí Gentamicina 3%, Alcon Cusí S.A., España) sobre la córnea del ojo.

3.1.8 Postoperatorio

Una vez finalizada la cirugía, se siguió de cerca el proceso de recuperación de los animales, los cuales se trataron con analgésicos, antibióticos de amplio espectro y antiinflamatorios, con el propósito de evitar dolor, cuadros infecciosos y procesos inflamatorios, respectivamente.

3.2 Técnicas de registro

Tras un periodo de recuperación, de al menos una semana, se procedió a la realización de los experimentos. Los animales para el registro de los movimientos oculares mediante la técnica clásica del seguidor magnético de la posición ocular, se sometieron a un periodo de habituación a las condiciones de inmovilización. En el resto de animales, finalizado el periodo de recuperación tras las intervenciones, se comenzó con normalidad el registro sin restricciones de movimiento.

3.2.1 Registro en el animal inmovilizado

3.2.1.1 Periodo de habituación y sesiones experimentales

Una vez recuperados de las intervenciones, los animales destinados al registro de los movimientos oculares, se sometieron a un periodo de habituación no inferior a cinco sesiones. Estas sesiones se llevaron a cabo en días alternos y comenzaron siempre a la misma hora. En ellas, se inmovilizó al animal y se fijó al sistema de registro, donde permaneció durante un

periodo que se fue prolongando gradualmente, hasta alcanzar las 5-6 horas de duración del registro. Al finalizar cada sesión, se recompensó al animal con nueces o algún otro alimento de su interés. De este modo, los animales se fueron habituando a las condiciones de inmovilidad paulatinamente. El periodo de habituación se consideró finalizado una vez que se comprobó la ausencia de depósitos de porfirina -indicativos de estrés- en torno a los ojos y al hocico, así como una frecuencia cardíaca y respiratoria no diferenciables de las del animal en libertad.

Finalizado el periodo de habituación, cada sesión experimental comenzó con la inmovilización del animal en la mesa de registro, la conexión al equipo de registro, y la calibración de la señal de los movimientos oculares. Después, se dejó al animal en el habitáculo de registro durante un periodo no superior a 6 horas y se monitorizó el experimento a distancia.

3.2.1.2 Inmovilización del animal

En cada sesión experimental, el animal se introdujo en una bolsa de tela con aberturas en ambos extremos, la cual se cerró mediante cintas en torno al cuello y a los cuartos traseros, dejando fuera únicamente la cabeza y la cola, e impidiendo que sobresaliera alguna de las extremidades. Siempre se procuró que el animal adoptara una postura cómoda antes de inmovilizarlo parcialmente con ayuda de vendas elásticas. El diseño del sistema permitió al animal realizar pequeños reajustes de la postura (figura 3-2).

Posteriormente, se fijó la cabeza, con una inclinación de 45° hacia adelante, a una barra horizontal mediante los tornillos implantados en la torreta, de modo que la cabeza quedó inmovilizada en el centro del generador de campos magnéticos (CNC-Engineering, EE.UU.). Una segunda barra horizontal sirvió de punto de anclaje, desde el cual se suspendió el peso del cuerpo del animal con ayuda de un cordel que se fijó a las vendas elásticas.

3.2.1.3 Calibración de los movimientos oculares

Tras fijar al animal, se desacopló el generador de campos magnéticos de la plataforma de fijación del animal, y se rotó el generador $\pm 10^\circ$ en torno a los ejes horizontal y vertical, permitiendo extrapolar los cambios de voltaje a grados de rotación. Una vez vuelto a fijar el generador a la plataforma de sujeción del animal, se realizó un registro continuo de la posición ocular de unos 30 minutos de duración. Durante este tiempo se sometió al animal a diversos

tipos de estimulación visual, acústica y vestibular con el propósito de estimular la ejecución de movimientos oculares. La representación de las coordenadas horizontal y vertical de cada ojo durante los 30 minutos de registro, permitió comprobar la ausencia de restricciones de movimiento del ojo que pudieran derivarse del proceso de implantación de las bobinas periculares. El valor medio de la posición de cada ojo durante este periodo, se tomó como la posición cero del ojo.

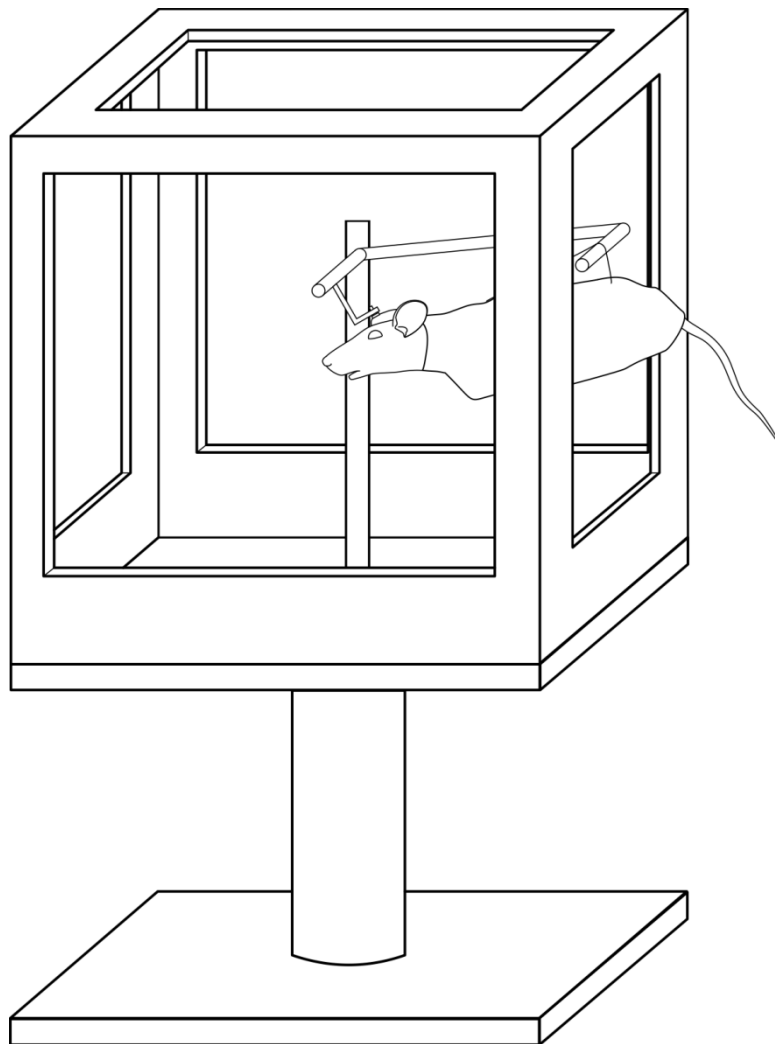


Figura 3-2. Inmovilización del animal para el registro de los movimientos oculares mediante el seguidor magnético de la posición ocular.

El animal se inmovilizó, mediante una bolsa de tela y un vendaje elástico suave, y se colocó en el interior de un sistema generador de campos magnéticos. La cabeza se inmovilizó en el centro del sistema, con una inclinación de 45° hacia adelante. El animal, junto con el sistema generador de campos magnéticos, se colocaron sobre una mesa, que permitió la estimulación vestibular y la liberación del generador de campos para realizar la calibración de los movimientos oculares.

3.2.2 Registro en el animal no inmovilizado

En aquellos animales en que no se registraron los movimientos oculares o bien estos se registraron mediante el sistema portátil, el registro se llevó a cabo en un cubículo de metacrilato de 35x40x30 cm. El habitáculo se acondicionó con serrín, agua y comida, de forma similar a la jaula en que los animales se encontraron estabulados. El habitáculo se ubicó en el interior de una jaula de Faraday que se conectó a la tierra del laboratorio.

Las sesiones experimentales tuvieron una duración máxima de entre 10 y 11 horas. Cada mañana, a la misma hora, se introdujo al animal en el cubículo de registro, donde se le permitió explorar libremente durante un corto espacio de tiempo. Transcurrido este periodo, se conectó el animal al sistema de registro. En aquellos animales en los que se registraron los movimientos oculares mediante el sistema de registro portátil, se fijó a la cabeza del animal el generador de campos magnéticos. Los cables de registro y de alimentación del generador magnético, se suspendieron de una barra que evitó que el peso del cable recayese sobre la cabeza, lo que facilitó el movimiento del animal por el habitáculo. A su salida de la jaula de Faraday, el cable de registro se conectó a un cabezal preamplificador, desde donde se enviaron las señales para su posterior filtrado, acondicionado y almacenamiento.

3.2.3 Acondicionamiento de las señales y registro de la actividad polisomnográfica

Para determinar la fase del ciclo vigilia-sueño y estudiar las actividades presentes en cada una de las estructuras abordadas, se registró la actividad polisomnográfica a lo largo de las sesiones experimentales. Para ello, las actividades eléctricas corticales y musculares se amplificaron y acondicionaron en un amplificador de 16 canales (Modelo 3600, A-M Systems, EE.UU.), donde se les aplicaron filtros pasa banda entre 0,3 Hz y 1 kHz, y entre 10 Hz y 20 kHz, respectivamente. En aquellos animales en los que se implantaron electrodos profundos, se aplicaron a estas señales los mismos parámetros de amplificación y filtrado que a las señales EEG.

Una vez filtradas y amplificadas, las señales se digitalizaron mediante una tarjeta de conversión analógico/digital (Power 1401mkII, CED, R.U.), junto con la señal de posición de los ojos y, en el caso de animales inmovilizados, la posición de la mesa de registro. Las señales procedentes de la mesa de registro y los ojos fueron digitalizadas a 1 kHz, mientras que los canales de EEG, EMG y electrodos profundos se adquirieron a 5 kHz.

3.3 Lesiones electrolíticas

Los animales se anestesiaron con isofluorano (Laboratorios Esteve, España) y se conectaron a un estimulador de pulso aislado programable (Modelo 2100, A-M Systems, EE.UU.). Uno de los polos del electrodo profundo se conectó al ánodo del estimulador y se cerró el circuito empleando una sonda rectal que se conectó al cátodo del estimulador. Para realizar la lesión electrolítica se procedió a pasar una corriente continua, en pulso cuadrado, con intensidad de entre 0,5 y 1,5 mA, y de 1 minuto de duración, dependiendo de la extensión de la estructura a lesionar.

Finalizada la lesión, se supervisó el proceso de recuperación del animal durante al menos una hora, antes de devolverlo a su habitáculo.

3.4 Callosotomía

Antes de la callosotomía, a los animales se les administraron entre 5 y 10 ml de salino glucosado al 5% (Grifols) por vía subcutánea o intraperitoneal, para prevenir la hipovolemia que pudiera producirse durante la intervención.

Los animales se colocaron en un marco estereotáxico con una elevación del hocico de entre 18 y 19º respecto del plano horizontal del animal, de modo que el cuerpo calloso quedara horizontal respecto del eje antero-posterior. Tras tomar referencia de la ubicación de Bregma, se trepanó una banda de hueso en la línea media que abarcó desde 3 mm por delante, hasta 7 mm por detrás de este punto. Se descubrieron las meninges y se introdujo una cuchilla en la línea media hasta una profundidad de entre 5 y 6 mm respecto de la superficie del cráneo, desde 2 mm por delante de Bregma hasta 7 mm por detrás, manteniendo la profundidad de la hoja. Tras extraer la hoja y esperar a que cesara la hemorragia que pudiera producirse, se tapó el trépano con cera de hueso y se cubrió con resina acrílica.

3.5 Sacrificio de los animales tras los experimentos y procesamiento histológico

Cuando finalizaron los experimentos, se procedió a sacrificar a cada animal con una dosis letal de pentobarbital sódico (100 mg/kg). Antes de que sobreviniera la parada cardiorrespiratoria, se abrió el tórax del animal para exponer el corazón y se inyectaron 0,25

ml de heparina sódica al 5% (Braun), en el ventrículo izquierdo. A continuación, a través de una incisión en el ventrículo izquierdo se canuló la aorta del animal, se realizó un corte en la aurícula derecha y se perfundieron 500 ml de solución salina (0,9% de NaCl y 0,1% de NaNO₂) para el lavado sanguíneo. Posteriormente se perfundieron otros 500 ml de una solución de paraformaldehído (Cod. 158127, Sigma-Aldrich, España) al 4% p/v en tampón fosfato 0,1M, pH 7,4.

Finalizada la perfusión, se cortó el hueso en torno a la torreta de registro, y se retiró ésta junto con los huesos frontales y parietales y el interparietal. Se seccionaron la médula y los diferentes pares craneales, lo que dejó el cerebro del animal libre para su extracción. El tejido se mantuvo en post-fijación durante dos horas en la misma solución que se empleó en el proceso de perfusión, y después se pasó a una solución crioprotectora de sacarosa al 30% en tampón fosfato 0,1M, pH 7,4, en la que permaneció durante un mínimo de 12 horas a 4 °C.

El cerebro se cortó en secciones coronales de 50 µm de grosor en un criotomo (CM1850, Leica, Alemania). Las secciones se recogieron directamente sobre portaobjetos o fueron almacenadas en tampón fosfato 0,1M, pH 7,4 para su posterior montaje y procesamiento mediante la tinción de Nissl.

Las secciones se montaron en portaobjetos gelatinizados y se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez completamente secas, se lavaron mediante una inmersión en agua destilada y se sumergieron durante 2 minutos en una solución de azul de toluidina 0,5% (Cod. 89640, Sigma-Aldrich, España) preparada en tampón acético-acetato pH 3,9 a temperatura ambiente. A continuación, los cortes se deshidrataron en una batería de alcoholes a concentraciones crecientes y se clarificaron con dos baños de xilol, en los que permanecieron no menos de 5 minutos. Finalmente, los cortes se cubrieron con DPX (Panreac, España). Las preparaciones se examinaron y fotografiaron en un microscopio Olympus BX61 (Olympus, Japón) y las reconstrucciones fotomicrográficas se realizaron mediante el software cellSens de procesamiento de imagen (Olympus, Japón).

3.6 Análisis y tratamiento estadístico de los datos

3.6.1 Movimientos oculares durante el ciclo vigilia-sueño

Con el propósito de caracterizar los diferentes tipos de movimientos oculares que se detectaron durante la vigilia, así como cambios en la codificación de estos durante el sueño, se

analizó la relación entre su velocidad máxima y su amplitud. Para ello se empleó el programa Spike2 (CED, R.U.) que permitió seleccionar los puntos de inicio y finalización de los movimientos oculares, y extraer los datos de velocidad pico, duración y amplitud.

A la relación velocidad-amplitud de los movimientos se realizó un ajuste lineal, cuya pendiente se empleó en la comparación entre estados y tipos de movimientos. El análisis estadístico de comparación de pendientes se realizó mediante la herramienta "aoctool" en el entorno Matlab (v. R2015a).

3.6.2 Análisis de la posición de los ojos a lo largo del ciclo vigilia-sueño

Para estudiar la disparidad interocular a lo largo del ciclo vigilia-sueño, se calculó la diferencia en la posición relativa de ambos ojos a lo largo del tiempo. Para ello, los valores de rotación hacia arriba y hacia la derecha fueron considerados positivos, mientras que los valores de rotación hacia abajo y hacia la izquierda se consideraron negativos. El valor de la posición del ojo derecho fue sustraído al valor de posición del ojo izquierdo en cada instante para los planos horizontal y vertical. De esta forma, en el plano horizontal los valores positivos indicaron una convergencia, mientras que los valores negativos indicaron una divergencia. Del mismo modo, en el plano vertical los valores positivos indicaron que el ojo izquierdo se encontró en una posición más elevada que el derecho y viceversa. Con el fin de obtener un valor representativo de la disparidad interocular durante cada fase del ciclo vigilia-sueño, se calcularon los valores medios para cada plano en cada fase.

3.6.3 Potencia espectral de la actividad electroencefalográfica durante el ciclo vigilia-sueño

El análisis de potencia espectral de la actividad EEG se realizó mediante el método de la transformada rápida de Fourier (Spike2). Para ello se tomaron 5 fragmentos de 30 segundos, de cada periodo del ciclo vigilia-sueño en cada animal, y se calculó la potencia espectral con una resolución de 0,49 Hz.

Para el análisis de la relación de potencia espectral entre estados, se calcularon los cocientes entre cada pareja posible de estados pertenecientes al mismo ciclo vigilia-sueño en cada animal. Con estos datos, se calculó la media y desviación estándar para cada grupo de cocientes correspondientes a la misma pareja de estados comparados.

3.6.4 Mapa de localización de las actividades corticales

El voltaje que se registró en cada electrodo de EEG se re-referenció respecto de la actividad promedio de todos los electrodos (referencia promedio). Para ello se calculó el promedio de la señal registrada por todos los electrodos y se sustrajo el valor resultante a la señal registrada en cada electrodo. Posteriormente, se calcularon las potencias espectrales de cada canal con una resolución de 0,98 Hz, para cada episodio de sueño REM. Considerando que pese a presentar perfiles muy similares, los valores de potencia espectral para diferentes individuos pudieron diferir debido a la distancia del electrodo a la corteza, el tamaño del electrodo y/o la atenuación de la señal por diferencias en los cables de registro, el análisis de localización se realizó calculando, para cada animal, los cocientes resultantes de dividir el espectro de frecuencia en la fase de interés por el de una fase de referencia. Así, por ejemplo, para el mapa de actividad cortical durante la fase REM, se usaron los cocientes de potencia entre la fase REM y la fase NREM previa, para cada animal. Estos cocientes se calcularon para un total de 10 episodios REM y sus episodios NREM precedentes en 13 animales. Tras normalizar los datos de cada localización mediante una transformación logarítmica, se calculó la media para cada localización entre los diferentes animales.

3.6.5 Filtrado y acondicionamiento de las señales electroencefalográficas

Con el propósito de estudiar la organización interna de las diferentes bandas de frecuencia, se realizaron filtros pasa-banda a los registros originales de la señal EEG. Específicamente, se emplearon filtros de respuesta finita (FIR), ya que por sus características no afectan a la fase de las señales. Los filtrados se realizaron en Spike2 y los parámetros que se aplicaron para cada banda de frecuencia fueron los que se muestran en la tabla 1.

Banda	Flanco inferior (Hz)	Flanco superior (Hz)	Amplitud de Flanco (Hz)
Delta	1	5	0,25
Theta	6	10	0,25
Husos	10	16	0,25
Alta Frecuencia	110	160	2,50

Tabla.1 Bandas de frecuencia usadas para el filtrado de la señal de EEG

Con el propósito de analizar la potencia y el comportamiento dinámico de los brotes de actividad en la banda de alta frecuencia, se calculó la envolvente de la señal filtrada con una constante de tiempo de 10 ms.

3.6.6 Análisis de comodulación de las señales electroencefalográficas

Con el objeto de analizar el acoplamiento entre la fase y la amplitud de las diferentes oscilaciones, se realizó un estudio de comodulación a la señal de cada canal EEG referenciado al cerebelo, en un total de ocho animales. Para ello, se seleccionaron al azar 2 episodios REM no inferiores a 30 s de cada animal. Sobre estos datos se ejecutó un análisis de comodulación (Canolty y col. 2006). En este análisis se emplearon filtros tipo FIR para extraer información sobre la amplitud de la señal original en pasos de frecuencia de 5 Hz e información sobre la fase con pasos de frecuencia de 1 Hz. Posteriormente, se calculó el índice de comodulación como la relación entre la amplitud de cada una de las bandas de 5 Hz y la fase instantánea de cada banda de 1 Hz. Una vez normalizados, los valores de comodulación para cada animal se ordenaron en un gráfico bidimensional (comodulograma), en el que el eje de abscisas representó la fase y el eje de ordenadas la amplitud. En este tipo de representación, los valores z resultantes representan una medida de la fuerza del acoplamiento, donde los valores elevados se corresponden con un mayor acoplamiento entre la amplitud y la fase del par de frecuencias comparadas. Los comodulogramas del conjunto de animales se promediaron y el umbral de significación se estableció en un valor z de 4,84 tras aplicar una corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples con $\alpha=0,001$ y $n=1560$.

3.6.7 Análisis de las variaciones tiempo-frecuencia de las señales electroencefalográficas

Para estudiar la dinámica temporal de las variaciones en frecuencia, se realizó un análisis de la potencia espectral relacionada a eventos (ERSP). Al emplear como evento de referencia el pico de amplitud del ritmo theta, este análisis permitió calcular la variación de la potencia espectral a lo largo del tiempo, para aquellas frecuencias cuyas variaciones de amplitud estuvieron en fase con theta.

Para ello, a partir de registros concatenados de distintos episodios REM de cada animal superiores a 500 s, se generó un canal de eventos que contuvo las marcas temporales en las que ocurrió el pico de cada ciclo de theta. A partir de estos eventos, se generaron ventanas temporales de 2 s de duración (± 1 s respecto de cada evento), y para cada ventana se calculó la potencia espectral en pasos de 0,32 ms con una precisión de 0,03 Hz. El valor promedio, en el intervalo de tiempo de -800 a -500 ms, se empleó como línea base, con respecto a la cual se midieron los cambios de potencia en cada ventana. Finalmente se calculó el espectro promedio para el conjunto de ventanas de cada animal y se promedió el resultado para el

conjunto de animales. El estudio de ERSP se realizó mediante EEGLAB (v. 13.5.4b) en Matlab (v. R2015a).

3.6.8 Análisis de coherencia espectral de las señales electroencefalográficas

Con el propósito de estudiar la conectividad funcional entre diferentes regiones de la corteza, se realizó un análisis de coherencia espectral. Estos análisis se realizaron en cinco animales con 6 electrodos de EEG en cada hemisferio cerebral. Para cada análisis de coherencia espectral se emplearon entre 8 y 10 episodios hasta alcanzar un registro total de, al menos, 500 s.

$$C_{xy}(f) = \frac{|G_{xy}(f)|^2}{G_{xx}(f)G_{yy}(f)} \quad [\text{Ec. 1}]$$

La coherencia espectral se calculó en Matlab como se muestra en la ecuación 1. $G_{xy}(f)$ representa el módulo de la densidad espectral cruzada entre las series x e y que se desean comparar, mientras que $G_{xx}(f)$ y $G_{yy}(f)$ representan la densidad espectral de x e y , respectivamente. Esta función permite establecer, para cada frecuencia, hasta qué punto y puede ser predicha por x mediante una regresión lineal por mínimos cuadrados (Tweedale y col., 2015). Nótese que la coherencia es una función real entre cero y uno que mide la correlación entre x e y para cada frecuencia.

En cada animal se calculó la coherencia entre todas las parejas de electrodos. Posteriormente se promediaron las comparaciones intrahemisféricas e interhemisféricas. Para ello, y dado que la densidad espectral cruzada es una función de la covariación cruzada para ambas señales, se normalizaron los datos, mediante la transformación z de Fisher, antes de realizar el promediado de las coherencias. Para facilitar la interpretación de los datos, una vez realizado el estudio de comparación de medias para los valores de coherencia normalizados, se retro-transformaron a valores de coherencia.

3.6.9 Análisis de las relaciones de fase entre señales electroencefalográficas

Con el propósito de analizar la relación temporal existente entre las diferentes regiones de la corteza para la banda theta y alta frecuencia, se realizó un análisis de fase empleando los mismos datos que en el análisis de coherencia.

$$\phi_{xy}(f) = \tan^{-1} \left(\frac{\text{Im}\{G_{xy}(f)\}}{\text{Re}\{G_{xy}(f)\}} \right) \quad [\text{Ec. 2}]$$

La relación de fase entre dos series de datos x e y, para una determinada frecuencia f, se calculó mediante la ecuación 2, en la que $\text{Im}\{G_{xy}(f)\}$ representa la parte imaginaria de la densidad espectral cruzada para las series que se desearon comparar, mientras que $\text{Re}\{G_{xy}(f)\}$ representa la parte real de la densidad espectral cruzada para dichas series (Blinowska y Zygierewicz, 2012).

Tras calcular la relación de fase para los diferentes componentes de frecuencia, en el espectro entre 1 y 300 Hz, se promediaron los valores pertenecientes a las bandas de interés. Este tratamiento se repitió para cada pareja de electrodos en todos los animales y, tras comprobar la normalidad de los datos, se promediaron los valores de fase, para las parejas homólogas, entre animales.

El análisis de fase en cada localización se llevó a cabo mediante la función “phase histogram” (Spike2). En este análisis, se tomaron como referencia los picos de máxima amplitud de cada ciclo en la banda theta y se midieron los momentos de ocurrencia de los de la oscilación de alta frecuencia. Los valores de tiempo se convirtieron a valores de fase en base a la duración del ciclo promedio de theta. Así pues, el histograma resultante, mostró la distribución de la fase de los picos de amplitud de la alta frecuencia en relación al ritmo theta. Los valores promedio de relación de fase, así como los intervalos de confianza al 95%, se obtuvieron mediante el módulo de estadística circular implementado en Matlab (v. R2015a).

3.6.10 Análisis de las transiciones entre estados

Con el objeto de analizar la evolución temporal de los cambios en potencia espectral de las bandas del EEG, o de la actividad EMG, durante los pasos de un estado de alerta a otro, se realizaron ajustes por mínimos cuadrados de las actividades utilizando la ecuación de la sigmoide de Boltzmann (Ec. 3). Así, tras filtrar el canal original en la banda de interés, en el caso del EEG, o la actividad directa rectificada en el del EMG, se calculó la envolvente de la señal, con una constante de tiempo de 1 s, y se realizó el ajuste.

$$f(x) = a_0 + (a_1 - a_0) / (1 + e^{\frac{a_2 - x}{a_3}}) \quad [\text{Ec. 3}]$$

En la ecuación 3, las variables a_0 y a_1 representan los límites inferior y superior de la sigmoide, respectivamente, a_2 indica el instante en el que la curva alcanza el 50% del valor máximo y a_3 se corresponde con el inverso de la pendiente en el punto a_2 .

Las sigmoides de ajuste de todos los animales se promediaron y se calcularon los valores de desviación y error estándar. Como referencia temporal para los promedios se usaron los instantes en que las sigmoides alcanzaron el 10 y el 90% del cambio total.

3.6.11 Análisis estadístico

Par el análisis estadístico de los datos se aplicaron las pruebas t-Student o ANOVA para la comparación de medias, previa comprobación de la normalidad de las distribuciones de los datos y la homogeneidad de varianzas. Los estadísticos correspondientes a cada prueba, así como el nivel de significación se indican para cada comparación realizada.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

De manera general, el ciclo vigilia-sueño en la rata, se caracterizó por la presencia de fenómenos tónicos y fásicos en cada una de las variables estudiadas. Como se muestra en la figura 4-1, la actividad EEG, durante sueño NREM (NREM) se caracterizó por oscilaciones tónicas de baja frecuencia (figura 4-1B, NREM) sobre la que se desarrollaron actividades fásicas correspondientes a los husos de sueño (asteriscos en figura 4-1A); estas actividades coexistieron, durante el periodo de transición (figura 4-1B, T), con las actividades propias de la fase REM (REM), caracterizada por la presencia de un marcado ritmo theta y oscilaciones en el rango de las altas frecuencias (figura 4-1B, REM); así mismo, la actividad theta fue también característica de los periodos de vigilia (V) a nivel del EEG. La actividad electromiográfica (EMG en la figura 4-1A), se caracterizó por la presencia de un tono muscular que se suprimió únicamente durante la fase REM, en la que se desarrollaron actividades fásicas correspondientes a las fasciculaciones musculares (cabezas de flecha en figura 4-1A); así mismo, durante la vigilia se identificaron actividades fásicas correlacionadas con el comportamiento motor del animal. A nivel oculomotor, se desarrollaron tendencias tónicas cuyas polaridades fueron características del estado de alerta, consistentes en una abducción en el plano horizontal que condujo a una divergencia durante la fase NREM (figura 4-1A, IH-DH) y una aducción e infraducción durante la fase REM (figura 4-1A, IH-DH y canales verticales, respectivamente). Sobre estas tendencias tónicas, se desarrollaron movimientos oculares de naturaleza fásica durante los periodos de vigilia y fase REM.

A continuación, se expondrán los resultados obtenidos en el estudio de los fenómenos tónicos y fásicos que caracterizan a la fase REM en el sistema oculomotor, seguidos de los resultados derivados del estudio de los fenómenos tónicos y fásicos que tienen lugar durante la fase REM en la actividad EEG. Los resultados se han organizado en un primer bloque que tratan las actividades presentes en el sistema oculomotor, un segundo bloque en el que se trata el desarrollo de un sistema de registro de movimientos oculares, sin la necesidad de inmovilizar a los animales, y un último bloque, en que se exponen los resultados derivados del estudio de la actividad EEG.

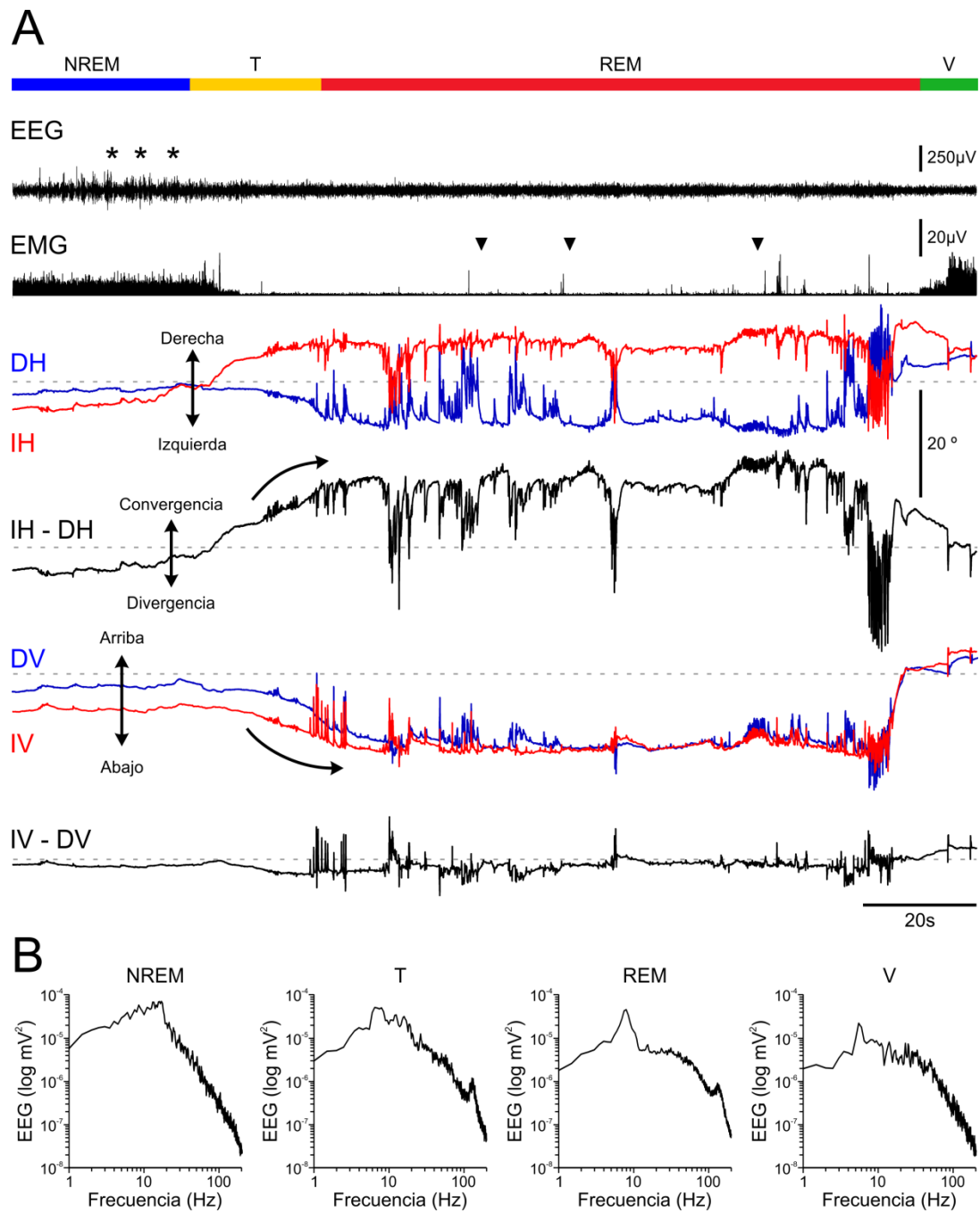


Figura 4-1. Características generales del ciclo vigilia-sueño.

A. Fragmento representativo de un ciclo vigilia-sueño en el que se muestra, de arriba a abajo: barra en que se identifican la fase NREM (NREM, azul), el periodo de transición (T, amarillo), la fase REM (REM, rojo) y la vigilia (V, verde); registro de la actividad electroencefalográfica (EEG), sobre el que se indica la ocurrencia de husos de sueño durante la fase NREM (asteriscos); registro de la actividad electromiográfica (EMG), en el que se marca la ocurrencia de fasciculaciones durante la fase REM (cabezas de flecha); el registro en el plano horizontal de la posición del ojo derecho (DH) e izquierdo (IH); la sustracción de la componente horizontal del ojo derecho al izquierdo (IH-DH); el registro en el plano vertical de la posición del ojo derecho (DV) e izquierdo (IV) y la sustracción de la componente vertical del ojo derecho al izquierdo (IH-DH). Para cada canal de ojos se indica la posición del cero (línea discontinua horizontal), así como la polaridad de los movimientos. B. Potencia espectral de la señal EEG correspondiente a los periodos de sueño NREM, transición, sueño REM y vigilia representados en A. El espectro de potencia durante NREM se caracterizó por la mayor potencia de las bajas frecuencia y de los husos. Durante la fase REM se produjo un incremento de potencia en la banda theta y en la banda de alta frecuencia. El periodo de transición (T) se caracterizó por la coexistencia de las actividades presentes en NREM y REM. Durante la vigilia (V) se observó una actividad theta, que fue menor que durante la fase REM, y un incremento en el extremo de las altas frecuencias debido a la actividad muscular.

4.1 Movimientos oculares durante el ciclo vigilia-sueño en la rata

4.1.1 Fase de vigilia

El comportamiento oculomotor durante la vigilia se caracterizó por la presencia de largos periodos de inmovilidad, que se interrumpieron, ocasionalmente, por la ejecución de movimientos oculares sacádicos (figura 4-2A). Estos movimientos ocurrieron generalmente durante los movimientos del animal. Los movimientos sacádicos fueron binoculares y ocurrieron de manera conjugada en ambos ojos (figura 4-2A), con valores medios de disparidad de $0,4 \pm 1,4^\circ$ y $0,1 \pm 1,8^\circ$ ($n=25$) en los planos horizontal y vertical, respectivamente. En la figura 4-4 se muestra como durante la vigilia, tanto en el plano horizontal (figura 4-4A) como en el vertical (figura 4-4B), los datos de posición de un ojo respecto del otro se distribuyeron sobre la bisectriz de la representación gráfica. Mientras los animales estuvieron alerta, los movimientos oculares sacádicos ocurrieron a una tasa de $1,6 \pm 0,9 \text{ min}^{-1}$ ($n=700$). Los valores medios de amplitud máxima y velocidad pico de los movimientos sacádicos en el plano horizontal fueron de $6,3 \pm 3,2^\circ$ (rango: $0,1-23,4^\circ$) y $308,2 \pm 171,1^\circ/\text{s}$ (rango: $31,9-878,5^\circ$; $n=700$), respectivamente. La relación entre el pico de velocidad y la amplitud de los movimientos oculares sacádicos, para estos rangos, se ajustó a una regresión lineal y las rectas de ajuste presentaron una pendiente media de $52,6 \pm 5,4^\circ/\text{s}/^\circ$ ($n=8$) (figura 4-3A y E).

Además de los movimientos oculares sacádicos, durante la vigilia se observaron movimientos oculares relacionados con los parpadeos. Como se muestra en la figura 4-2B, durante la vigilia, cada parpadeo estuvo acompañado de una rotación del globo ocular que consistió en una aducción y una infraducción. Estos parpadeos, que pudieron ser mono- o binoculares, ocurrieron a una tasa media de $1,6 \pm 0,7 \text{ min}^{-1}$ ($n=800$). De manera general, el perfil de velocidad de los movimientos oculares durante los parpadeos, presentó un pico doble, cuyas amplitudes y velocidades máximas medias fueron de $9,0 \pm 2,8^\circ$ y $315,9 \pm 100,0^\circ/\text{s}$ en el plano horizontal, y de $15,7 \pm 7,9^\circ$ y $579,5 \pm 335,5^\circ/\text{s}$ en el vertical, respectivamente ($n=400$). La relación entre el pico de velocidad y la amplitud para este tipo de movimientos también se ajustó a un modelo de regresión lineal. Las rectas de ajuste presentaron una pendiente media de $22,4 \pm 6,0^\circ/\text{s}/^\circ$ y $27,8 \pm 10,0^\circ/\text{s}/^\circ$ en los planos horizontal y vertical, respectivamente ($n=8$).

Por último, durante la vigilia, también ocurrieron movimientos oculares durante la oclusión dentaria en los episodios de roedura que caracteriza a estos animales (figura 4-2C). Estos movimientos presentaron una ritmicidad típica, con una frecuencia media de $6,1 \pm 1,2 \text{ Hz}$

al comienzo de los brotes, y que fue incrementando progresivamente hasta los $10,7 \pm 1,5$ Hz ($n=30$). Con cada oclusión, los ojos realizaron una abducción y una supraducción. Las medias de amplitud y velocidad pico de los movimientos oculares durante la roedura fueron de $2,6 \pm 1,0$ ° y $131,8 \pm 33,7$ °/s, y de $3,8 \pm 1,6$ ° y $207,2 \pm 68,5$ °/s en los planos horizontal y vertical, respectivamente ($n=330$).

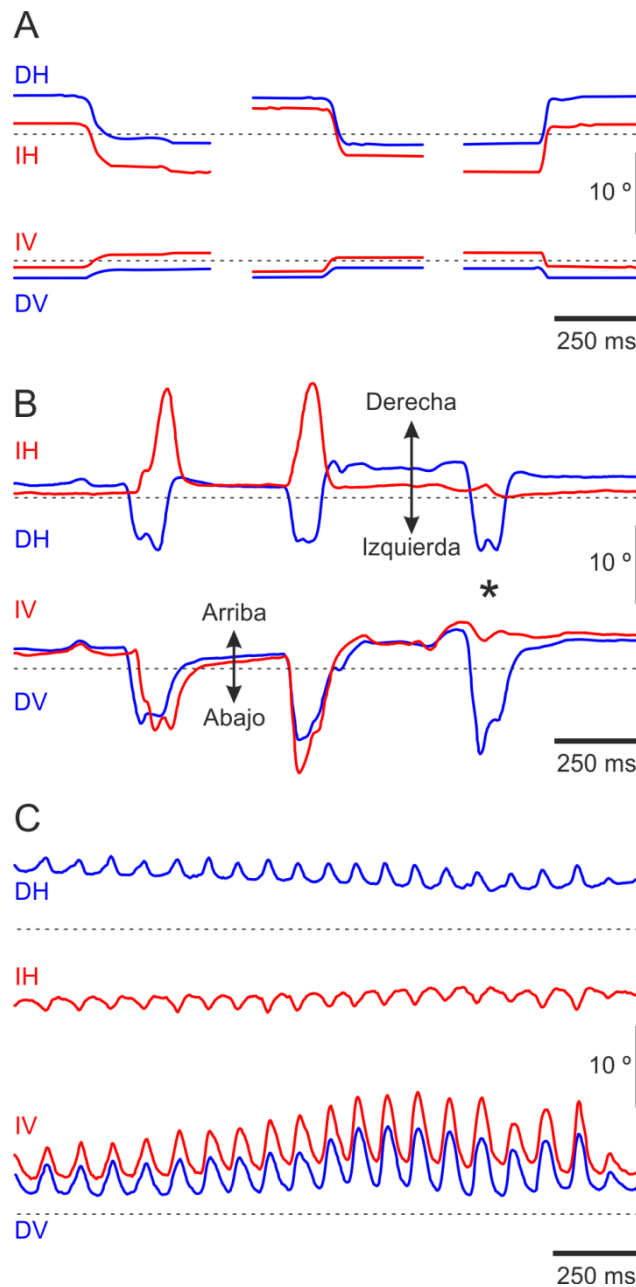


Figura 4-2. Tipos de movimientos oculares durante la vigilia. Representación de movimientos sacádicos (A), movimientos oculares binoculares o monoculares (asterisco) asociados al parpadeo (B), y movimientos oculares asociados a la roedura (C). Las señales del ojo derecho (trazos azules) e izquierdo (trazos rojos), se han descompuesto en las componentes horizontal (DH e IH) y vertical (DV y IV). Las líneas discontinuas representan el cero para los planos horizontal y vertical. La dirección de los movimientos se indica en B.

Del registro de todos estos tipos de movimientos, se calculó que las amplitudes de los campos oculomotores de la rata durante la vigilia fueron de $36,7 \pm 15^\circ$ y $38 \pm 14,9^\circ$ en los planos horizontal y vertical, respectivamente.

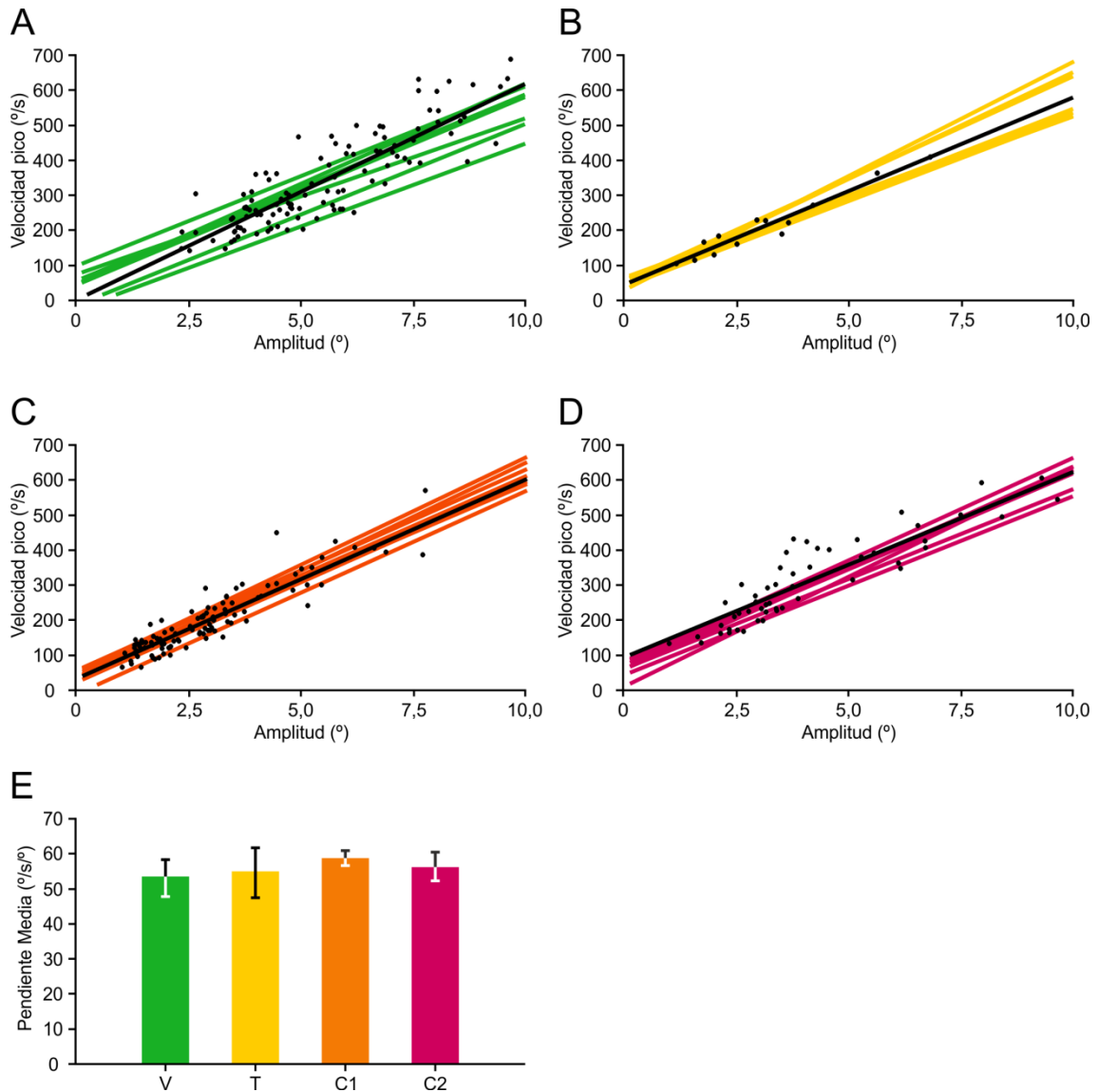


Figura 4-3. Relación entre la amplitud máxima y la velocidad pico de los movimientos oculares durante el ciclo vigilia-sueño.

Representación de las rectas de ajuste para la relación velocidad-amplitud, de los movimientos oculares en el plano horizontal durante la vigilia (A), el periodo de transición (B) y las componentes C1 (C) y C2 (D) de los movimientos oculares durante la fase REM. Para cada estado, se muestran la nube de puntos y la recta de ajuste a los mismos para un animal representativo (en negro), así como las rectas de ajuste para otros siete animales (en color). E. Media y desviación estándar de la pendiente de las rectas de ajuste de cada estado, manteniendo el mismo código de color que en A, B, C y D.

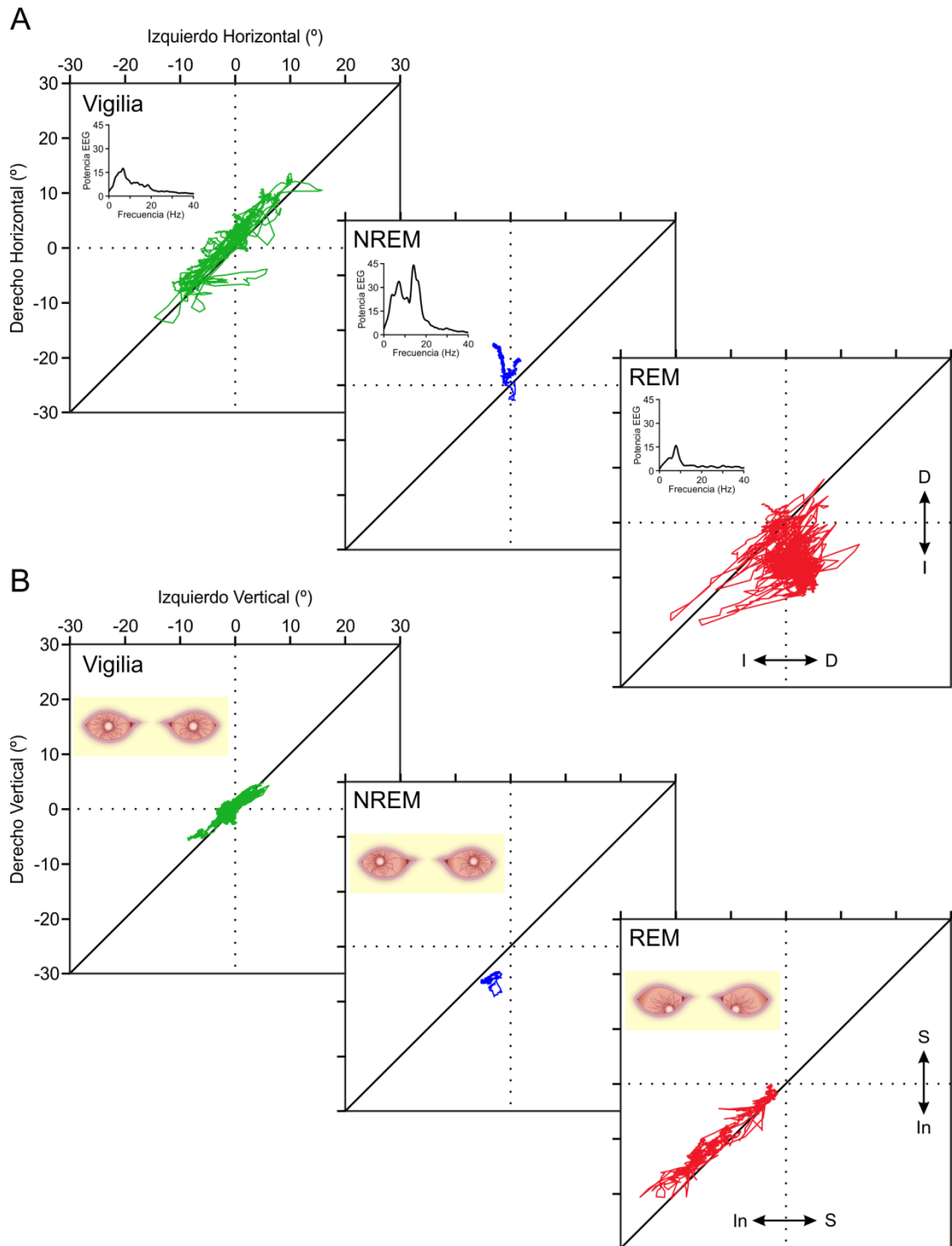


Figura 4-4. Disparidad interocular de los movimientos oculares en los planos horizontal y vertical durante el ciclo vigilia-sueño.

Cada gráfico muestra la representación de la posición del ojo derecho frente al izquierdo, en los planos horizontal (A) y vertical (B), durante el ciclo vigilia-sueño de un animal representativo. Como se muestra en A, los movimientos oculares durante la vigilia fueron conjugados y sus trayectorias se distribuyeron sobre la bisectriz del primer y tercer cuadrante, mientras que, durante REM y NREM, los trazos se distribuyeron por encima y por debajo de la bisectriz, indicando convergencia y divergencia, respectivamente. En el plano vertical (B), la trayectoria de los ojos se distribuyó sobre la bisectriz durante todo el ciclo, indicando baja disparidad interocular. Los insertos en A, muestran la potencia espectral en el EEG durante la fase correspondiente. Los insertos en B, representan la tendencia conjunta de los planos horizontal y vertical para ambos ojos, durante la fase correspondiente. D, derecha; I, izquierda; In, infraducción; S, supraducción.

4.1.2 Fase NREM

De forma progresiva, algunos de los episodios de vigilia tranquila evolucionaron hacia la fase NREM del sueño, la cual se identificó por la ausencia de movimientos oculares rápidos y un EEG con predominio de ondas de baja frecuencia y gran amplitud (inserto en figura 4-4A). Los movimientos oculares durante este periodo fueron de escasa amplitud, lentos, erráticos y no conjugados. Como se puede observar en la figura 4-4, la dispersión de los valores de posición de un ojo respecto del otro, se distribuyeron entre el primer y tercer cuadrante, indicando que los ojos mantuvieron una posición tónica diferente de la que se registró durante la vigilia (insertos en figura 4-4B). Así, en el plano horizontal, cada ojo mostró una abducción media de $9,9 \pm 7,4^\circ$ (n=8), que fue significativamente diferente de la posición media durante la vigilia (ANOVA $F=15,3$; $P<0,001$) (figura 4-5B). En el plano horizontal, ambos ojos mostraron una divergencia media de $19,8 \pm 6,5^\circ$ (n=25) (figura 4-5C). En el plano vertical, los ojos mostraron una infraducción media de $0,8 \pm 3,5^\circ$ (n=50), con una disparidad interocular de $4,0 \pm 3,9^\circ$ (n=25), que no difirió de la que se calculó durante los periodos de vigilia.

4.1.3 Transición entre las fases NREM y REM

De manera general, el primer episodio REM de cada sesión se produjo tras varios ciclos en los que se alternaron vigilia y sueño NREM. Todos los episodios REM estuvieron precedidos por una fase NREM y nunca se observaron transiciones directas entre la vigilia y el sueño REM.

Las transiciones entre las fases NREM y REM del sueño se caracterizaron por la presencia de actividades EEG y EMG que presentaron características mixtas entre ambos estados. Desde el punto de vista oculomotor también se produjo un cambio gradual en la posición media de los ojos y en la disparidad interocular que caracterizó a la fase REM respecto de la NREM (figura 4-4). En la figura 4-5A se muestra un ejemplo de registro de la posición ocular de ambos ojos durante la transición y el inicio de la fase REM. Como se puede observar en esta figura, se produjo un cambio gradual en la posición tónica de los ojos, que pasaron de una abducción y supraducción de la fase NREM a una aducción e infraducción durante la fase REM.

Durante la transición, también comenzaron a producirse movimientos oculares rápidos de pequeña amplitud (figura 4-5A). Los movimientos oculares rápidos durante la transición pudieron ocurrir en uno o ambos ojos y fueron simples, aislados y presentaron un único pico de velocidad. Estos movimientos ocurrieron en ambos planos, si bien, de forma general, fueron de mayor amplitud en el plano horizontal. El análisis de la relación entre la amplitud y la

velocidad pico de los movimientos oculares rápidos durante la transición, se ajustó a un modelo de regresión lineal. La pendiente media de las rectas de regresión que se ajustaron a estas relaciones fue de $54,2 \pm 7,1$ °/s/° (n=8) (figura 4-3B y E).

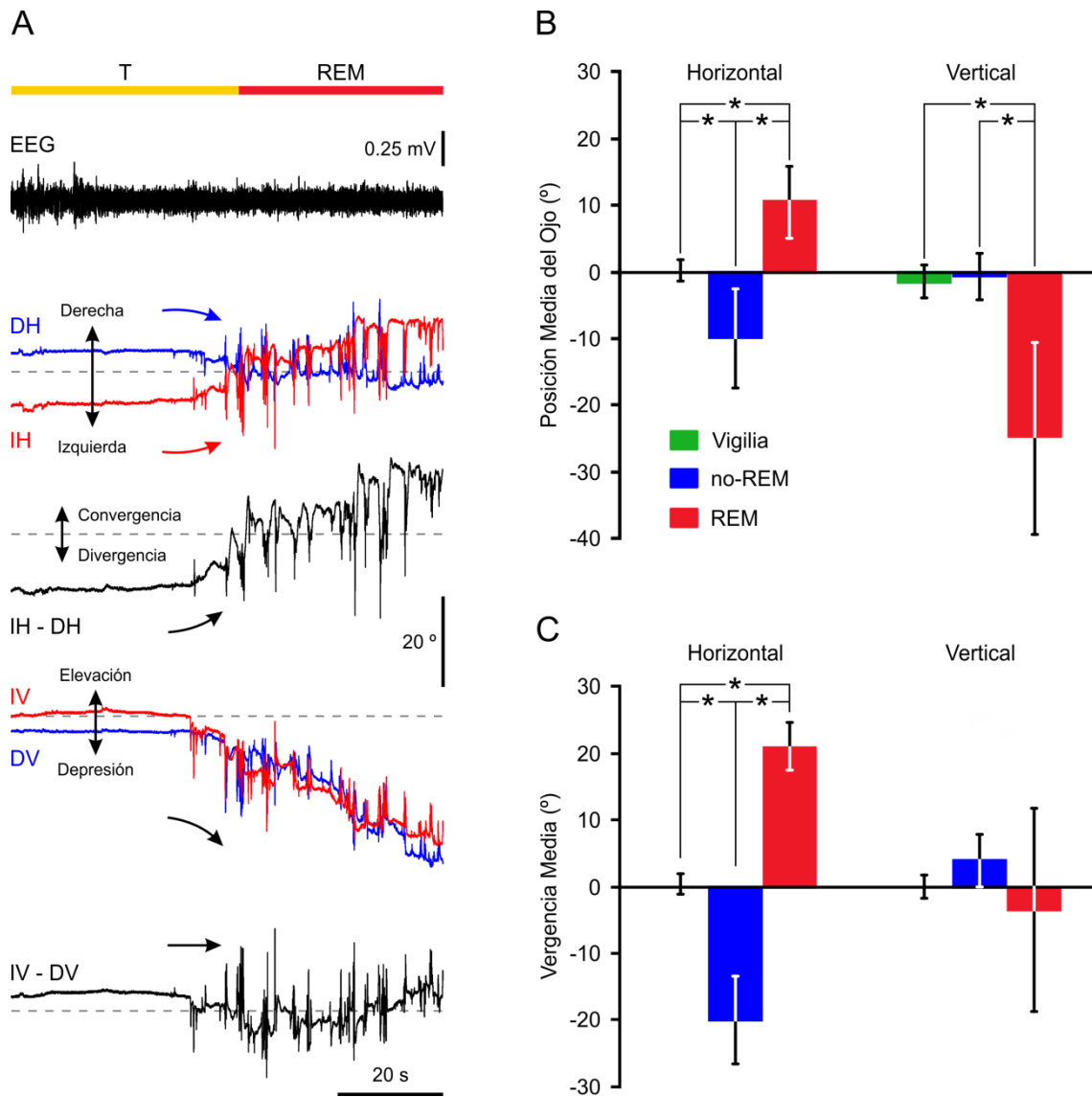


Figura 4-5. Tendencias tónicas de los ojos durante el ciclo vigilia-sueño.

A. De arriba abajo se representa una barra en que se identifican el periodo de transición (T, amarillo) y la fase REM (REM, rojo), la actividad en electroencefalográfica (EEG), las componentes horizontales de los ojos derecho (DH) e izquierdo (IH), el resultado de sustraer las componentes horizontales (IH-DH), la componente vertical del ojo izquierdo (IV) y derecho (DV), y el resultado de sustraer las componentes verticales (IV-DV). En el plano horizontal, los ojos desarrollaron una aducción que resultó en una convergencia tónica durante REM. En el plano vertical los ojos desarrollaron una marcada infraducción tónica, que fue de magnitud similar en los dos ojos. B. Representación gráfica del valor medio de posición ocular en los planos horizontal y vertical durante vigilia (verde), NREM (azul) y REM (rojo) para el conjunto de animales estudiados. C. Representación gráfica, con el mismo código de color que en B, de los valores medios de disparidad interocular en los planos horizontal y vertical durante el ciclo vigilia-sueño, para el conjunto de animales estudiados. Respecto de la vigilia, en el plano horizontal se desarrolló una divergencia (valores negativos) y una convergencia (valores positivos) durante las fases NREM y REM, respectivamente. Los asteriscos en B y C representan diferencias significativas ($P < 0,01$).

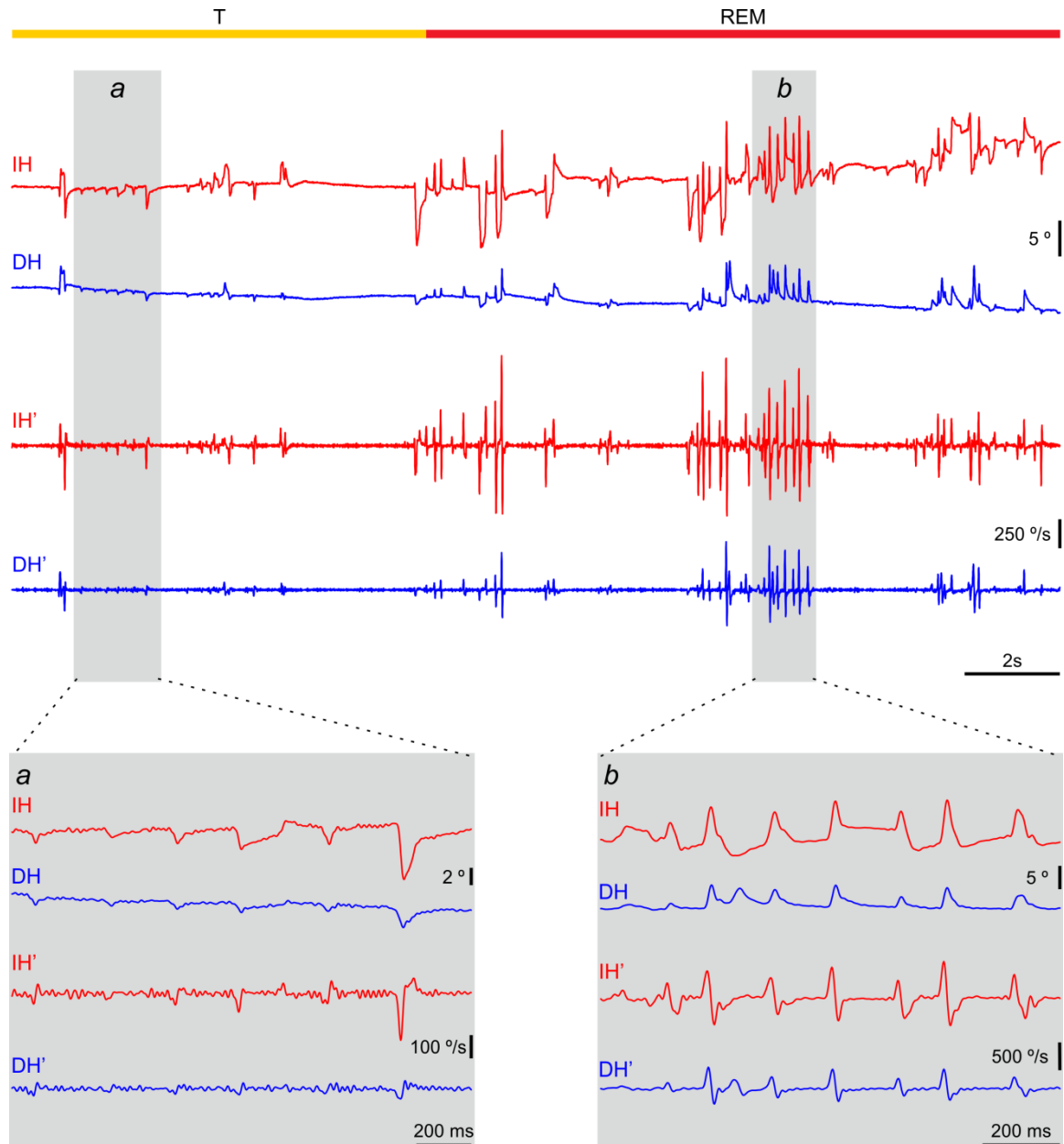


Figura 4-6. Características de los movimientos oculares rápidos durante el periodo de transición y la fase REM. De arriba abajo se muestra una barra en la que se identifican el periodo de transición (T, amarillo) y la fase REM (REM, rojo), la componente horizontal de los movimientos oculares en el ojo izquierdo (IH) y el derecho (DH) y la velocidad de los movimientos oculares en el plano horizontal para el ojo izquierdo (IH') y el derecho (DH'). En los cuadros inferiores se representan, ampliadas, las regiones sombreadas correspondientes a la transición (a) y a la fase REM (b). Los movimientos oculares durante la transición fueron más sencillos y de menor amplitud, velocidad y complejidad que durante la fase REM.

Con el progreso de la transición, los movimientos oculares rápidos aumentaron en frecuencia, amplitud y complejidad, pasando a formar brotes de varios movimientos consecutivos, que afectaron a ambos ojos de forma sincronizada. La figura 4-6, muestra, en

detalle, la evolución en complejidad de los movimientos oculares rápidos entre la transición y la fase REM consolidada. En las regiones sombreadas de la figura 4-6, ampliadas en la parte inferior de la misma figura, se puede observar el aumento en tamaño y velocidad, así como el cambio en el perfil de velocidad de los movimientos.

La ocurrencia de los movimientos oculares rápidos aislados, paralelo a los cambios en las actividades EEG y EMG, permitió emplear la aparición del primero de estos movimientos oculares como referencia del inicio de la transición a nivel oculomotor. Del mismo modo, la ocurrencia del primer brote de movimientos oculares rápidos complejos, se empleó como referencia del inicio de la fase REM consolidada. Atendiendo a estos criterios de ocurrencia de los dos tipos de movimientos oculares rápidos, se calculó que los periodos de transición tuvieron una duración media de $37,6 \pm 16,0$ s (n=48).

4.1.4 Fase REM

Como se ha descrito en el apartado anterior, durante la fase REM, los ojos tendieron a mantenerse desviados tónicamente en aducción e infraducción (figura 4-4). Así, la posición media de aducción fue de $10,6 \pm 5,5$ ° (n=50) y la de infraducción de $25,0 \pm 14,5$ ° (n=50), que fueron diferentes de las posiciones de los ojos durante la vigilia (ANOVA $F=29,2$; $P<0,001$ y $F=23,3$; $P<0,001$ para los planos horizontal y vertical, respectivamente) y durante la fase NREM (ANOVA $F=41,7$; $P<0,001$ y $F=23,7$; $P<0,001$ para los planos horizontal y vertical respectivamente) (figura 4-5B). Como se puede observar en la figura 4-5C, la disparidad interocular durante la fase REM, mostró un valor de convergencia promedio de $21,1 \pm 3,6$ ° (n=25) en el plano horizontal, que fue significativamente diferente del de la vigilia (ANOVA $F=721,5$; $P<0,001$) y del de fase NREM (ANOVA $F=764,8$; $P<0,001$). La disparidad interocular en el plano vertical mostró un valor medio de $-3,4 \pm 15,3$ ° (n=25) y no se encontraron diferencias significativas respecto de los valores de los demás estados (figura 4-5C).

Durante la fase REM, los movimientos oculares rápidos ocurrieron en brotes de hasta 10 movimientos consecutivos. Si bien la densidad de los brotes de movimientos oculares fue variable, los movimientos oculares rápidos dentro de un mismo brote ocurrieron a una frecuencia media de $7,3 \pm 1,4$ Hz (n=100). La amplitud de los movimientos oculares rápidos durante la fase REM osciló entre 0,4 y 16,5 °, con valores medios de $4,0 \pm 2,4$ ° (n=900) y $3,1 \pm 2,1$ ° (n=430) para los planos horizontal y vertical, respectivamente. Cada movimiento ocular rápido presentó dos componentes, que se identificaron como componente 1 (C1) y

componente 2 (C2) en base al orden de aparición (figura 4-7). Estos componentes ocurrieron siempre de forma consecutiva y en direcciones opuestas. La latencia media entre los picos de velocidad de C1 y C2 fue de $17,8 \pm 4,5$ ms ($n=200$). En el plano horizontal, C1 pudo ocurrir indistintamente en ambas direcciones, si bien, en la mayoría de los casos, el movimiento del ojo homolateral a la dirección de la rotación (abducción) presentó mayor velocidad y amplitud que el del ojo contralateral (aducción) (figura 4-7). Cuando el ojo se encontró en una posición cercana a los valores máximos de rotación tónica, cada movimiento rápido en el plano vertical consistió, casi exclusivamente, en una supraducción seguida por una infraducción.

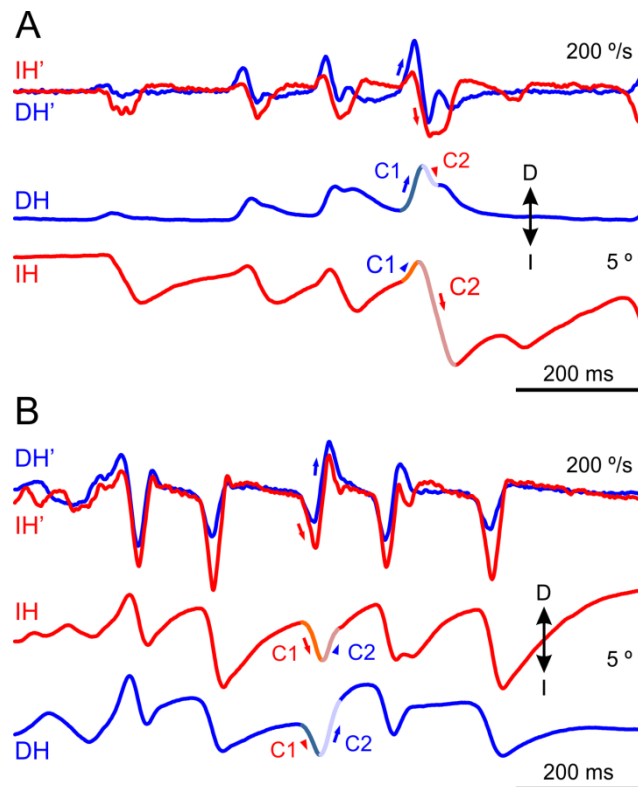


Figura 4-7. Movimientos oculares rápidos durante la fase REM.

Componente horizontal de los movimientos oculares del ojo izquierdo (trazos rojos) y derecho (trazos azules), en posición (IH, DH) y velocidad (IH', DH'), durante brotes representativos de movimientos oculares de la fase REM. La primera componente (C1) se pudo desarrollar en el ojo derecho (A) o en el izquierdo (B). La segunda componente (C2), siguió siempre a la primera y fue mayor en el ojo contralateral. El mayor o menor tamaño de las componentes se representa con una flecha y una cabeza de flecha, respectivamente. D, Derecha; I, izquierda.

Para detectar posibles cambios en la codificación de las propiedades dinámicas de los movimientos oculares, se calculó la relación entre el pico de velocidad y la amplitud del movimiento para ambos componentes, y se compararon con los movimientos oculares rápidos que ocurrieron durante los periodos de transición y vigilia. En todos los casos la relación se ajustó a un modelo de regresión lineal para ambos componentes, con una pendiente media de

las rectas de ajuste de $58,2 \pm 2,1$ °/s/° (n=8) y $55,6 \pm 4,0$ °/s/° (n=8) para C1 y C2, respectivamente (figura 4-4C, D y E). Mediante el análisis de comparación de pendientes, se comprobó que no existieron diferencias significativas entre las pendientes de C1 y C2, ni con las de las rectas que se obtuvieron del análisis de los movimientos oculares rápidos durante la transición o la vigilia ($54,2 \pm 7,1$ °/s/° (n=8) y $52,6 \pm 5,4$ °/s/° (n=8)), (ANOVA F=1,42; P=0,235).

A diferencia de la entrada, la salida desde la fase REM fue abrupta y se caracterizó por el cese de las actividades fásicas y tónicas, con una vuelta de la posición del ojo al centro de la órbita, que coincidió con la restauración del tono muscular y la disminución de potencia de la banda theta del EEG. La duración media de los episodios REM, desde la aparición del primer brote de movimientos oculares rápidos hasta el cese de la actividad fásico/tónica ocular, fue de $115,2 \pm 45,2$ s (n=48).

4.2 Desarrollo de un sistema portátil para el registro de los movimientos oculares

Para registrar la ocurrencia de actividades oculares fásicas y tónicas sin necesidad de inmovilizar al animal durante las sesiones experimentales, se desarrolló un sistema portátil de registro de los movimientos oculares (figura 4-8A). El sistema estuvo constituido por un generador de campos magnéticos de reducido tamaño y ajustable a la cabeza del animal, que permitió el registro de los movimientos oculares de manera similar a como lo hace la técnica original (Robinson, 1963; Fuchs y Robinson, 1966). La detección de los movimientos oculares se basó en el registro de los cambios de voltaje que indujeron los campos magnéticos en bobinas implantadas sobre la esclerótica del ojo. El giro del globo ocular respecto del campo magnético, indujo un cambio de voltaje que fue proporcional a la amplitud del movimiento.

4.2.1 Generador de campos magnéticos

El generador de campos magnéticos se fabricó en fibra de carbono para garantizar una máxima resistencia con un bajo peso y distorsión del campo magnético. El diseño consistió en una placa de 2 mm de espesor, de la que partieron dos brazos que terminaron, cada uno de ellos, en una bobina de inducción de 35 espiras y 15 mm de diámetro. Las bobinas se fabricaron con hilo de cobre barnizado de 0,2 mm de diámetro. Las bobinas de inducción distaron entre sí un total de 30 mm y cada una se posicionó a unos 5 mm de cada ojo, con una orientación que fue paralela a la de la bobina que se fijó a la esclerótica del ojo (ver inserto en

la figura 4-8A). El generador incorporó un conector, para la entrada de la alimentación eléctrica, y se fijó a la cabeza del animal mediante tornillos que se implantaron sobre torreta de registro (figura 4-8A). El peso del sistema completo fue de 5,08 g. En la figura 4-8B se muestra un esquema del funcionamiento del sistema. El generador de campo magnético se alimentó con una onda seno de ± 15 V de amplitud y 100 kHz de frecuencia (inserto *a* en la figura 4-8B), con la que se indujo un campo magnético sinusoidal, de la misma frecuencia, junto a cada ojo del animal. Este campo magnético, generó a su vez, una corriente sinusoidal a 100 kHz en cada bobina periocular. La amplitud de esta corriente varió con la rotación del ojo (cabezas de flecha en el inserto *b* de la figura 4-8B). La señal recogida por cada bobina periocular se amplificó y se transformó en una señal continua (inserto *c* en la figura 4-8B). El circuito de amplificación tuvo una ganancia de 150 y se basó en el operacional TL082, y en su transformación de sinusoidal a lineal mediante un circuito detector de picos (figura 4-8C). Así, los cambios de voltaje que se registraron en la bobina periocular, estuvieron relacionados directamente con el grado de rotación del ojo respecto del campo magnético.

Las pruebas que se realizaron, con una bobina idéntica a las bobinas periorbitales que se implantaron en los animales, mostraron que la resolución espacial del sistema fue aproximadamente de 0,03 °, equiparable a la del sistema comercial que se empleó en los ensayos con animales inmovilizados.

La descomposición de los movimientos oculares, en sus componentes horizontal y vertical, no fue posible con este sistema. No obstante, sí permitió realizar registros de la posición del ojo de gran precisión, principalmente de la ocurrencia de los movimientos, sus amplitudes y velocidades relativas, así como de la presencia de cambios tónicos en la posición del ojo respecto de la posición neutra.

4.2.2 Registro con el sistema portátil

De manera general, tras unos minutos, los animales dejaron de mostrar interés por el dispositivo portátil implantado. Tras explorar el cubículo de registro y desarrollar con normalidad los comportamientos de alimentación y acicalamiento, se desplazaron a un rincón, donde permanecieron inmóviles. Durante las primeras dos sesiones de registro, los tiempos medios que estos animales permanecieron en NREM, REM y vigilia fueron de $43,6 \pm 8,0$ %, $5,4 \pm 0,4$ % y $50,2 \pm 9,2$ % ($n=3$), respectivamente. Estos resultados no difirieron de los que se obtuvieron respecto de las duraciones calculadas a partir de las actividades EEG y EMG en animales que se registraron sin el sistema portátil (NREM: $36,7 \pm 0,44$ %; REM: $4,1 \pm 0,6$ %;

vigilia: $58,8 \pm 1,2 \%$ ($n=3$)). Por el contrario, aquellos animales en los que se registraron los movimientos oculares con el sistema comercial y, por tanto, tuvieron que ser inmovilizados, pasaron una media del $0,79 \pm 0,30 \%$ del tiempo en fase REM, tras una media de $4,0 \pm 1,4$ días de entrenamiento. Estos animales, necesitaron un promedio de $7,0 \pm 2,8$ días de habituación, hasta alcanzar porcentajes de tiempo en NREM y REM similares a los que se obtuvieron en las dos primeras sesiones de registro sin inmovilización.

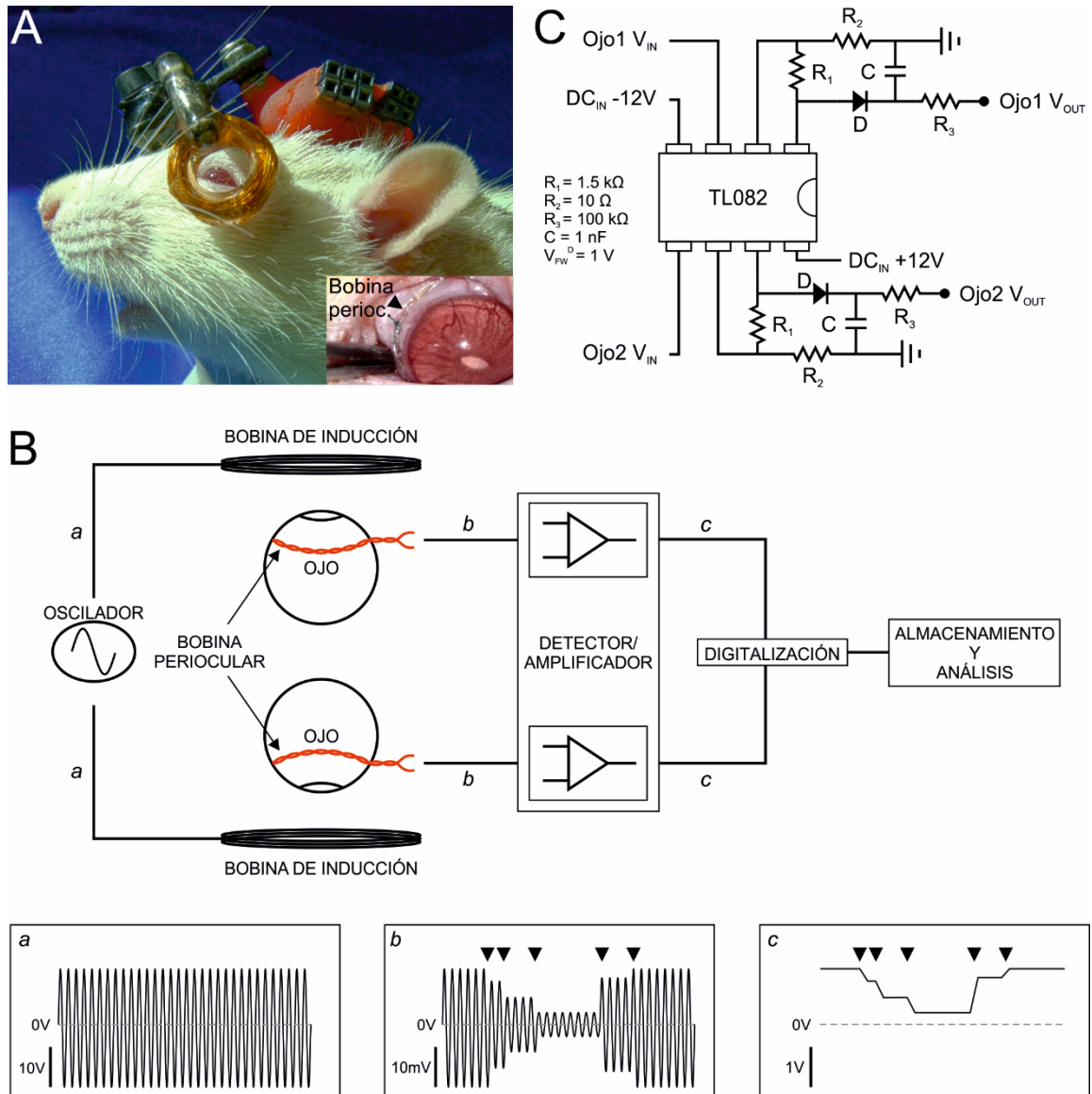


Figura 4-8. Descripción del sistema portátil para el registro de la posición ocular.

A. Fotografía del sistema de registro portátil sobre la cabeza del animal y detalle de una bobina periocular implantada en el ojo. B. Una señal de ± 15 V y 100kHz (inserto *a*) alimenta las dos bobinas de inducción que generan el campo magnético. La bobina periocular de cada ojo registró el campo magnético oscilante, el cual indujo un voltaje cuya amplitud varió con los movimientos del ojo (cabezas de flecha en *b*). Esta señal fue amplificada y acondicionada mediante un circuito detector de picos (C), y la señal resultante (inserto *c*) se digitalizó para su posterior análisis.

4.2.3 Comparación de los movimientos oculares registrados con el sistema portátil y con el sistema comercial

Para verificar la validez del sistema, se compararon los movimientos oculares que se registraron con el sistema portátil y los que se registraron con el sistema comercial. Así, durante el periodo de vigilia, se pudieron registrar movimientos oculares que se indujeron por estimulación vestibular en el plano horizontal (a 0,25 Hz; de $\pm 25^\circ$ a $\pm 45^\circ$) (figura 4-9A), la ejecución de movimientos oculares sacádicos espontáneos (figura 4-9B), los movimientos oculares durante el parpadeo (figura 4-9C) o los movimientos oculares durante las roeduras (figura 4-9D). Cada uno de estos tipos de movimientos fue cualitativamente similar a los que se registraron en los mismos animales con el sistema comercial (figura 4-9E a H).

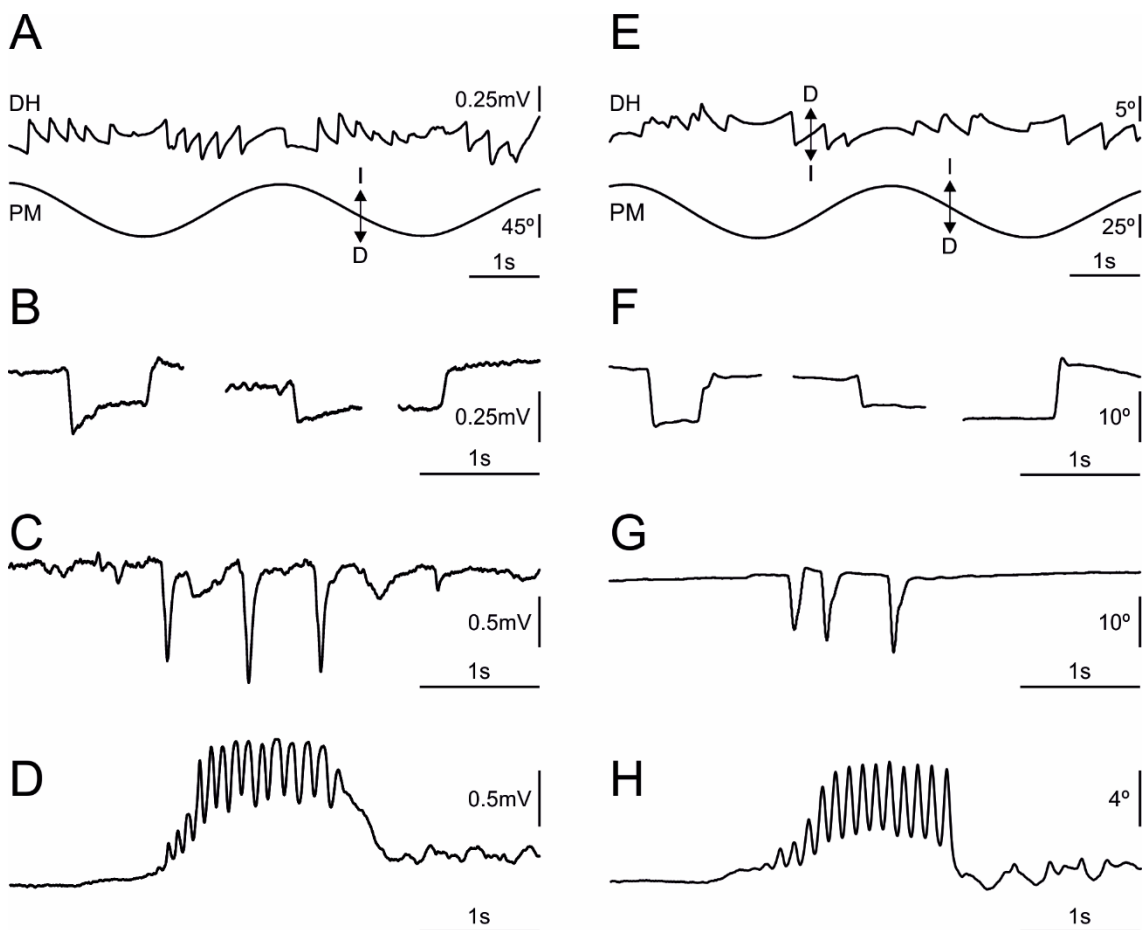


Figura 4-9. Ejemplos de registro de los movimientos oculares con el sistema portátil y con el sistema comercial. Ejemplos de movimientos oculares durante el reflejo vestibulo-ocular (A), sacádicos espontáneos (B), parpadeos (C) y roedura (D), registrados con el sistema portátil en un animal en libertad, y la componente horizontal de los mismos tipos de movimientos (E-H, respectivamente), registrados con el sistema comercial. D, derecha; I, izquierda.

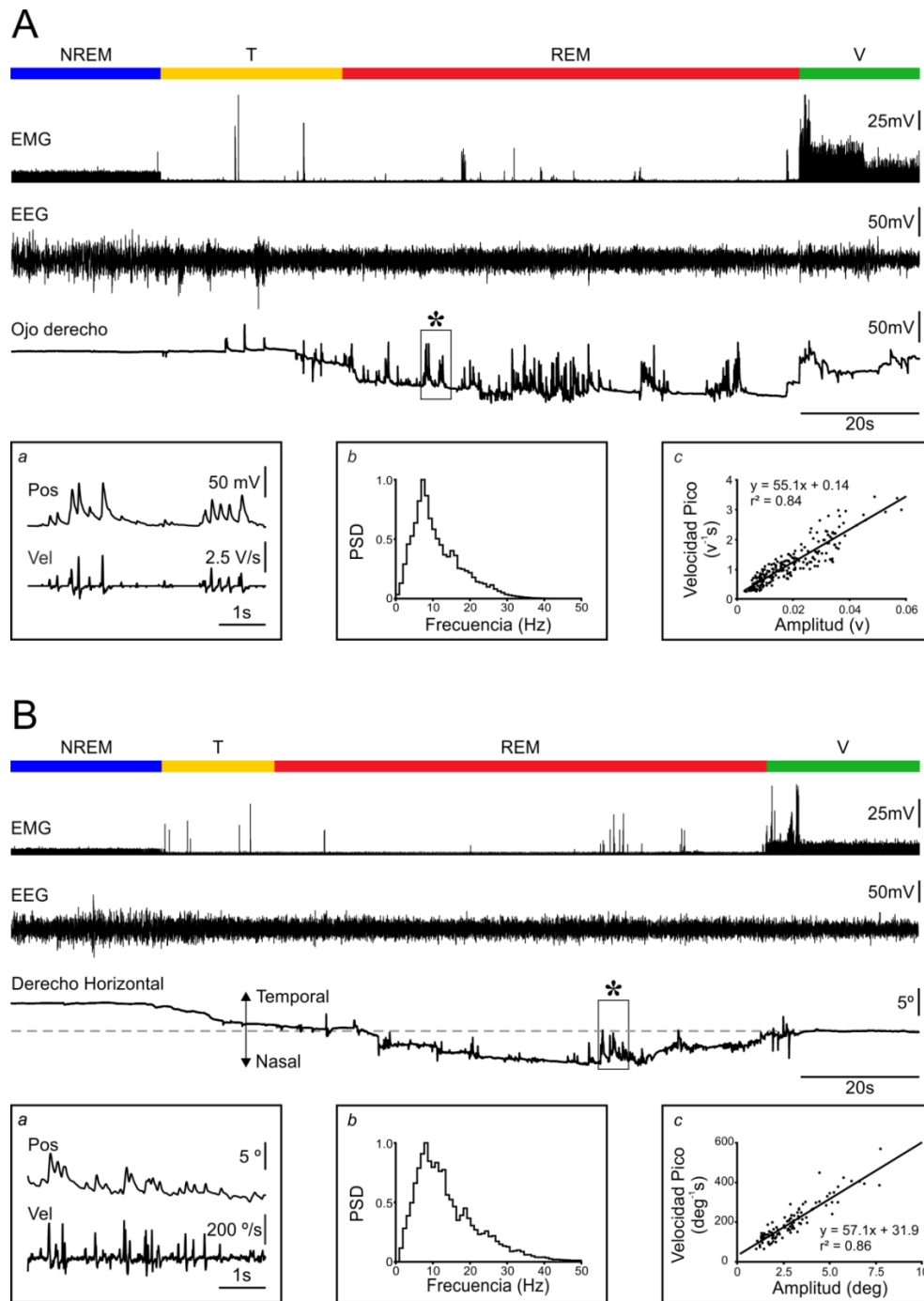


Figura 4-10. Movimientos oculares registrados con el sistema portátil y con el sistema comercial durante el ciclo vigilia-sueño.

A. Polisomnograma representativo en el que se muestran el electromiograma (EMG), el electroencefalograma (EEG) y los movimientos oculares registrados con el sistema portátil durante el ciclo vigilia-sueño. De arriba abajo: barra indicadora de la fase NREM (NREM, azul), el periodo de transición (T, amarillo), la fase REM (REM, rojo) y la vigilia (V, verde); EMG de la musculatura cervical; EEG; y movimientos oculares del ojo derecho registrado con el sistema portátil. Nótese el cambio de posición durante transición y fase REM, en relación a la vigilia y la fase NREM. En el inserto 'a', se muestra un detalle de la posición (Pos) y velocidad (Vel) de los movimientos oculares correspondientes al periodo marcado en el trazo del ojo (asterisco). Durante la fase REM los movimientos se organizaron en brotes a una frecuencia en torno a los 8 Hz (inserto 'b') y mostraron una relación lineal entre su amplitud y su velocidad pico (inserto 'c'). B. Registros análogos a los presentados en A, usando el sistema comercial. Sólo se representa la componente horizontal del ojo. Nótese las similitudes entre la forma, el agrupamiento, y la relación velocidad-amplitud de los movimientos oculares registrados con ambos sistemas.

Durante la fase NREM se observaron movimientos de deriva lenta y la posición media de los ojos permaneció prácticamente constante. Entre dos y tres horas tras el inicio de la sesión, en las que se alternaron periodos de vigilia y la fase NREM, los animales comenzaron a desarrollar los primeros episodios de fase REM.

En la figura 4-10 se comparan los movimientos oculares en dos fragmentos del ciclo vigilia-sueño que se registraron con el sistema portátil (figura 4-10A), y con el sistema comercial (figura 4-10B). Tanto la forma de los movimientos registrados (insertos a en la figura 4-10), como la frecuencia de ocurrencia de estos movimientos (insertos b en la figura 4-10) o las relaciones velocidad-amplitud de los movimientos (insertos c en la figura 4-10), fueron similares entre los dos sistemas de registro.

En conjunto, estos resultados demuestran la validez del sistema portátil de registro de la posición ocular para la detección de los movimientos oculares. Al mismo tiempo, y a diferencia del sistema comercial, elimina la necesidad de inmovilizar a los animales, una condición que dificulta la ejecución de ciclos vigilia-sueño naturales.

4.3 Características de la actividad electroencefalográfica durante el ciclo vigilia-sueño

La caracterización de la actividad EEG durante el ciclo vigilia-sueño se realizó con 30 ciclos vigilia-sueño que se registraron en 6 animales. En estos animales se registraron la actividad EEG, los movimientos oculares mediante la técnica de seguimiento de la posición ocular y la actividad del músculo acromiotrapecio.

Las mayores diferencias entre estados se encontraron en las bandas de baja frecuencia y la correspondiente a los husos, que fueron las más representativas de la fase NREM; y, de theta y gamma, que lo fueron de la vigilia y de la fase REM del sueño. Un especial énfasis se puso en el análisis de las oscilaciones de alta frecuencia en la banda entre 110 y 160 Hz, poco descrita hasta ahora, y que fue una característica principal de la fase REM.

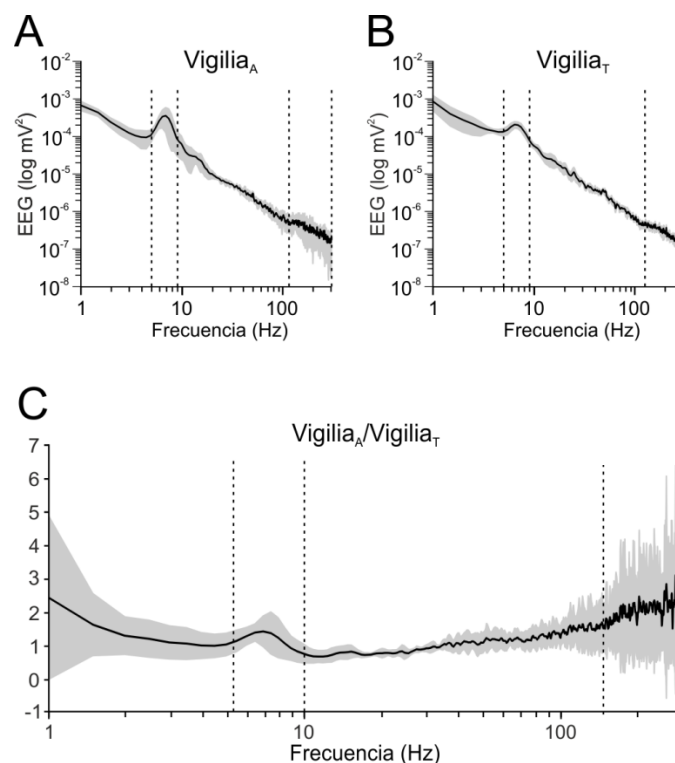


Figura 4-11. Comparativa de la actividad espectral durante las vigilias activas y tranquilas.

Potencia espectral media en la banda entre 1 y 300 Hz, durante los estados de vigilia activa (A) y tranquila (B). Las actividades más prominentes, en ambos estados, ocurrieron en la banda theta (primer intervalo entre líneas discontinuas) y en la banda de altas frecuencias (segundo intervalo entre líneas discontinuas). C. Cociente entre los espectrogramas representados en A y B. La potencia espectral durante la vigilia activa tendió a ser superior que en los periodos de vigilia tranquila, especialmente en los intervalos theta y de alta frecuencia.

4.3.1 Actividad electroencefalográfica durante la vigilia

La actividad EEG durante la vigilia se caracterizó, en general, por un perfil espectral de baja potencia y alta frecuencia, en el que predominaron las actividades theta y gamma (figura 4-11). No obstante, estas actividades fueron dependientes del nivel de actividad del animal. Así, durante los periodos de vigilia activa (figura 4-11A), en los que los animales ejecutaron comportamientos de exploración y acicalamiento, las potencias de las bandas theta y gamma, y especialmente en la banda de alta frecuencia por encima de los 130 Hz, resaltaron claramente (figura 4-11B). Los máximos de potencia en la banda theta, en los periodos de vigilia activa y vigilia tranquila, se alcanzaron a los $6,5 \pm 0,4$ Hz ($n=30$) y $6,3 \pm 0,6$ Hz ($n=30$), respectivamente. Estos valores no fueron significativamente diferentes (ANOVA $F=0,74$; $P=0,411$). En el rango de alta frecuencia, los máximos se alcanzaron a los $131,2 \pm 6,5$ Hz ($n=30$) y $132,5 \pm 6,1$ Hz ($n=30$), para los periodos de vigilia activa y vigilia tranquila, respectivamente. Estos valores tampoco fueron significativamente diferentes (ANOVA $F=0,13$; $P=0,728$).

Como se indicó en la sección de métodos, para comparar la potencia espectral entre estados y animales, se calculó el cociente entre los espectros de frecuencia correspondientes a los periodos de vigilia activa y vigilia tranquila. En la figura 4-11C, se representan la media y la desviación del cociente para los seis animales entre 1 y 300 Hz. Como se puede observar, la potencia espectral promedio en la banda theta durante los periodos de vigilia activa, fue $1,3 \pm 0,5$ veces mayor que en la vigilia tranquila ($n=30$). En la banda de alta frecuencia entre 110 y 160 Hz, la potencia espectral promedio durante la vigilia activa fue $1,6 \pm 0,7$ veces mayor que durante la vigilia tranquila ($n=30$). La diferencias de potencia entre vigilia activa y tranquila, para las bandas theta y de alta frecuencia, no fueron significativas ($P>0,05$).

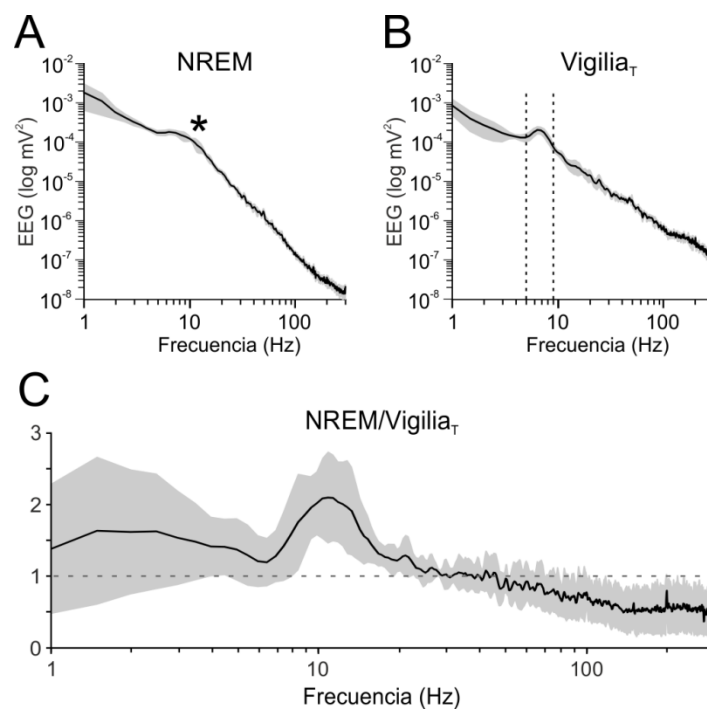


Figura 4-12. Comparativa de la actividad espectral durante la fase NREM y la vigilia tranquila. Potencia espectral media en la banda entre 1 y 300 Hz durante la fase NREM (A) y la vigilia tranquila (B). Durante la fase NREM, existió un predominio de las oscilaciones lentas con un pico en torno a los 12 Hz (asterisco). El cociente entre la potencia espectral asociada a la fase NREM y a la vigilia tranquila (C), mostró valores por encima de 1 hasta los 20 Hz, indicando una mayor potencia de estas actividades durante NREM, y valores inferiores a 1 por encima de 20 Hz, debido a la mayor potencia de las actividades de alta frecuencia durante la vigilia tranquila.

4.3.2 Actividad electroencefalográfica durante la fase NREM

La actividad EEG durante la fase NREM se caracterizó por un incremento de potencia de las bajas frecuencias, un pico de actividad a los $11,2 \pm 1,4$ Hz ($n=30$), que se correspondió con los husos de sueño (asterisco en figura 4-12A), y una disminución de potencia de las frecuencias a partir de los 30 Hz (figura 4-12A).

La comparación de la actividad espectral durante la fase NREM respecto de la vigilia tranquila (figura 4-12C) mostró que la potencia espectral durante sueño NREM fue superior a la de la vigilia tranquila hasta aproximadamente los 30 Hz. La mayor diferencia se alcanzó en el rango de los husos de sueño, con un valor de potencia entre los 10 y los 13 Hz que fue $2,1 \pm 0,6$ veces mayor que en la vigilia tranquila ($P < 0,05$). El valor de potencia promedio en la banda de alta frecuencia durante sueño NREM, fue de $0,6 \pm 0,3$ veces menor que el que se alcanzó durante la vigilia tranquila ($P < 0,05$).

4.3.3 Actividad electroencefalográfica durante la fase REM

4.3.3.1 Componentes de frecuencia

Durante la fase REM, el predominio de las bajas frecuencias y de la actividad EEG relacionada con los husos de la fase NREM (figura 4-13B) se desvanecieron paulatinamente durante el periodo de transición y apareció un pico de potencia espectral en la banda theta (intervalo con líneas punteadas en la figura 4-13A) y un incremento de potencia espectral por encima de los 30 Hz, que alcanzó su máximo en el rango de los 130-160 Hz (flecha en la figura 4-13A). El pico de potencia en la banda theta se alcanzó a una frecuencia media de $7,2 \pm 0,3$ Hz ($n=30$). Este valor de frecuencia fue significativamente superior al que se alcanzó durante los periodos de vigilia activa ($6,5 \pm 0,4$ Hz, $n=30$) y vigilia tranquila ($6,3 \pm 0,6$ Hz, $n=30$) (ANOVA $F=7,03$; $P < 0,01$). El pico de potencia en el rango de alta frecuencia se alcanzó a una frecuencia promedio de $131,7 \pm 3,5$ Hz ($n=30$) y no difirió de los valores que tuvo en la vigilia tranquila o en la activa (ANOVA $F=0,08$; $P=0,919$).

En las figuras 4-13C a E se muestran las relaciones de potencia espectral durante el sueño REM respecto de la vigilia activa, la vigilia tranquila y el sueño NREM, respectivamente. Como se puede observar, la mayor diferencia se alcanzó en la banda theta, donde el valor promedio de potencia durante la fase REM fue $3,6 \pm 1,8$ ($P < 0,05$); $3,7 \pm 1,0$ ($P < 0,05$) y $2,6 \pm 0,4$ ($P < 0,05$) veces mayor que en la vigilia activa, la vigilia tranquila y el sueño NREM, respectivamente. La potencia media de las señales entre 30 y 200 Hz fue mayor durante la fase REM en relación al resto de estados. El pico de alta frecuencia, presentó una amplitud relativa media durante la fase REM que fue $1,8 \pm 1,1$; $2,6 \pm 1,6$ y $4,9 \pm 1,2$ veces mayor que durante la vigilia activa, la vigilia tranquila y el sueño NREM, respectivamente. De estas comparaciones, solo la amplitud relativa de la fase REM respecto de la NREM fue significativa ($P < 0,05$).

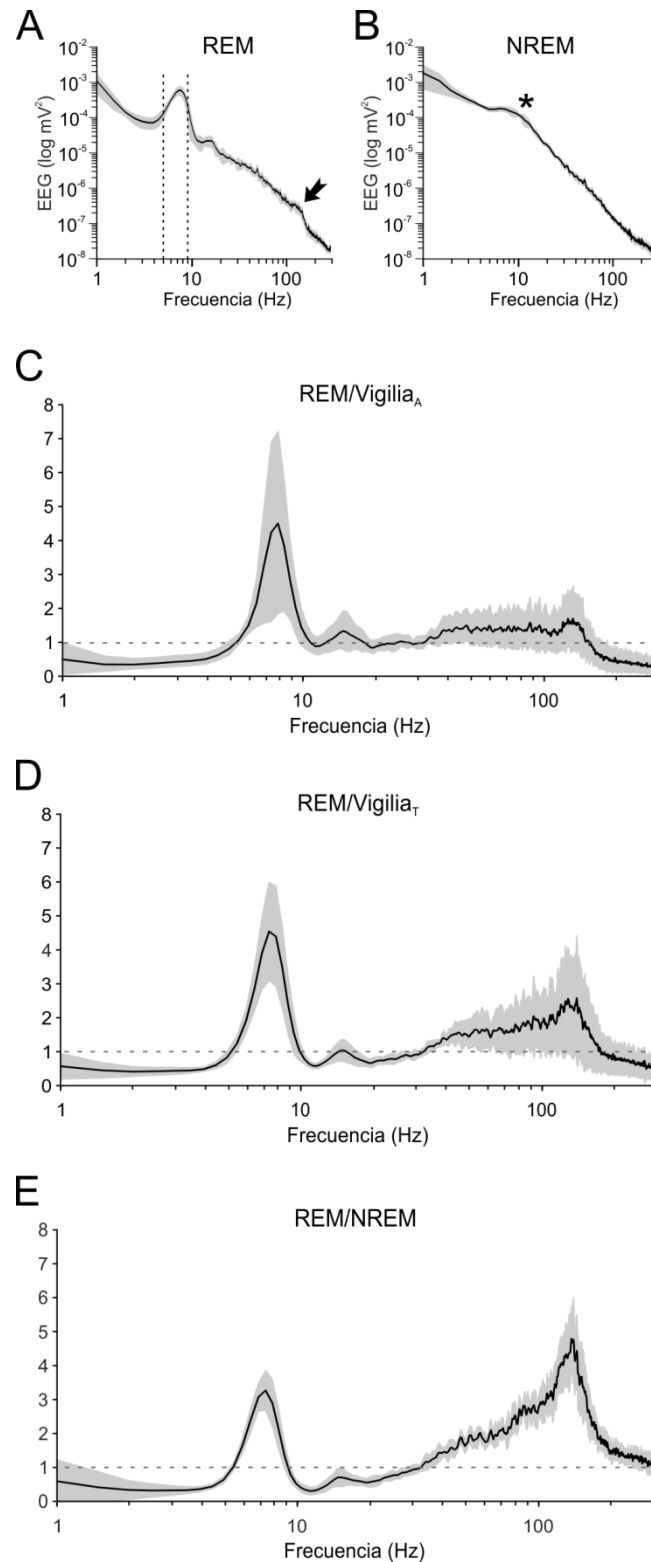


Figura 4-13. Comparativa de la actividad espectral durante la fase REM respecto de vigilia y NREM. Potencia espectral media en la banda entre 1 y 300 Hz durante las fases REM (A) y NREM (B). Respecto de las bajas frecuencias en la fase NREM (asterisco en B), durante la fase REM se desarrolló un pico de mayor potencia en la banda theta (intervalo entre líneas discontinuas en A) y otro en la banda de altas frecuencias (flecha en A). El cociente de la potencia en la fase REM respecto de la vigilia activa (C), la vigilia tranquila (D) y la fase NREM (E), mostró que la potencia espectral de la banda theta y gamma fue consistentemente mayor durante la fase REM respecto de los demás estados (valores por encima de línea discontinua horizontal). La potencia de la banda de alta frecuencia durante la fase REM constituyó la mayor diferencia respecto de la fase NREM.

4.3.3.2 Organización tónico-fásica de la actividad cortical

Un análisis de la actividad theta a lo largo de la fase REM mostró que esta actividad se mantuvo elevada de manera prácticamente constante. Sin embargo la actividad de alta frecuencia mostró un patrón fásico, de modo que ocurrió en brotes de entre 3 y 10 ciclos. En la figura 4-14A se muestra un fragmento representativo de la actividad EEG durante la fase REM (trazo superior), así como el resultado de filtrar esta señal entre 6 y 10 Hz (trazo intermedio) y entre 110 y 160 Hz (trazo inferior). Para comprobar la constancia de la banda de alta frecuencia a lo largo de la fase REM, se estudiaron las potencias espectrales en esta banda, en segmentos de 30 segundos, durante la transición desde la fase NREM a REM, un periodo intermedio y otro final de la fase REM. Los máximos de potencia se alcanzaron a los $130,1 \pm 3,1$ Hz, $129,6 \pm 1,5$ Hz y $130,5 \pm 3,0$ Hz ($n=30$), durante la transición, el segmento intermedio y el segmento final, respectivamente. Estos datos no fueron significativamente diferentes ($F=0,21$; $P=0,814$) indicando que la actividad de alta frecuencia fue estable durante toda la fase REM.

Los brotes de alta frecuencia tendieron a ocurrir con una frecuencia media de $7,0 \pm 0,3$ Hz ($n=7$), que fue muy próxima a la frecuencia media que mostró el ritmo theta durante la fase REM ($7,2 \pm 0,5$ Hz; $n=7$). Para estudiar la relación de fase entre estos brotes y los ciclos de theta, se realizó un análisis de comodulación entre la fase de los componentes de baja frecuencia y la potencia de las actividades de alta frecuencia. En la figura 4-14B se muestra el comodulograma promedio durante la fase REM ($n=8$). Los valores por encima del límite de significación (trazo blanco, $P<0,001$), indicaron que los cambios de amplitud en la banda entre 70 y 200 Hz, mantuvieron una relación de fase estable con las oscilaciones en el rango entre 5 y 10 Hz. Un análisis de correlación de eventos entre los brotes de alta frecuencia en la banda entre 110 y 160 Hz y los ciclos de theta (inserto en la figura 4-14B), mostró que la mayoría de los brotes de alta frecuencia tendieron a ocurrir en cada ciclo de theta, de modo que en el 87,6% de los ciclos de theta ocurrió un brote de alta frecuencia. Así mismo, el 61,6% de los brotes en la banda de alta frecuencia ocurrieron durante la acrofase ($\pm 45^\circ$) del ciclo de theta.

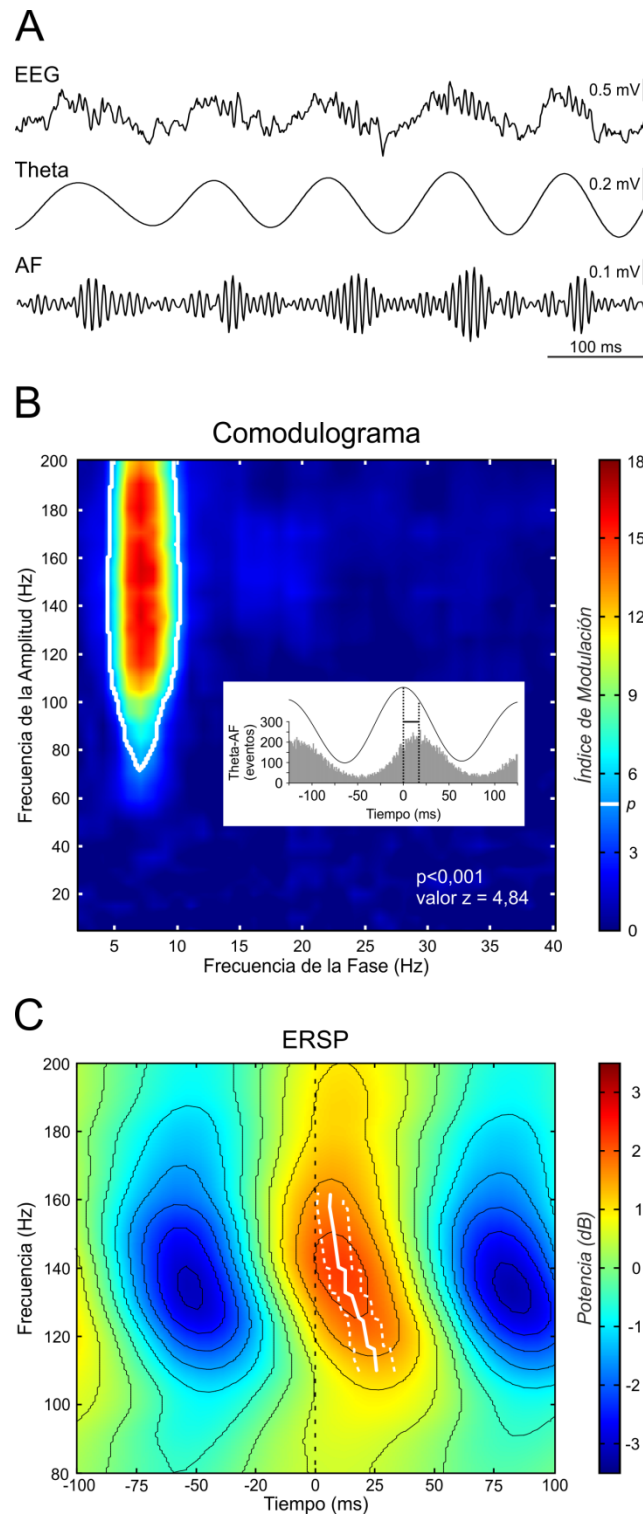


Figura 4-14. Actividad de la banda de alta frecuencia respecto de theta durante la fase REM. A. De arriba abajo se muestran un fragmento representativo del electroencefalograma (EEG) bruto de un animal durante la fase REM, el resultado de su filtrado entre 6 y 10 Hz (Theta) y entre 110 y 160 Hz (AF). B. Comodulograma promedio de la relación potencia-fase durante REM para un total de 8 animales. La línea blanca delimita el nivel de significación ($P < 0,001$), y el inserto muestra la relación temporal entre la actividad theta y la de alta frecuencia. C. Análisis de la potencia espectral relacionada a eventos (ERSP), en que se muestra la relación temporal de las frecuencias entre 80 y 200 Hz, respecto del pico de amplitud de theta. El trazo blanco muestra la distribución de los picos de potencia para la banda entre 110 y 160 Hz, y los trazos discontinuos la desviación de la media. Nótese el incremento en la latencia para las frecuencias más bajas.

Como este análisis dio información sobre la existencia de una relación de fase entre la envolvente de la alta frecuencia y theta, pero no tuvo en cuenta el desfase respecto de theta para cada frecuencia, también se realizó un análisis de la variación de la potencia de la alta frecuencia respecto de la fase de la oscilación en theta. En la figura 4-14C se muestra la variación de la potencia de las oscilaciones de alta frecuencia respecto del ciclo de theta que se usó como sincronizador. Como se puede observar por los cambios de color, las mayores potencias espectrales ocurrieron en el rango entre 110 y 160 Hz. También se puede observar, en la misma figura, que los máximos de potencia para las frecuencias entre 110 y 160 Hz (línea blanca) no mantuvieron una latencia constante respecto de theta, sino que fueron incrementando en latencia conforme la frecuencia fue disminuyendo.

4.3.3.3 Desarrollo de las actividades fásicas y tónicas durante la transición a REM

Dada la estrecha relación existente entre theta y la alta frecuencia, pareció importante determinar si ambas actividades se desarrollaban simultáneamente durante el inicio del sueño REM. Para este estudio se utilizaron un total de siete animales, en los que se seleccionaron aleatoriamente cinco episodios REM de cada uno. A los datos de potencia espectral de cada transición en la banda de alta frecuencia, se les realizó el ajuste por mínimos cuadrados de una sigmoide de Boltzmann. A partir de estos ajustes, el momento de ocurrencia del cambio del 50% de esta actividad de cada transición se tomó como referencia temporal para realizar un análisis tiempo-frecuencia. Este análisis se realizó con una precisión temporal de 125 ms y de 0,015 Hz en frecuencia y permitió observar la cinética de las distintas bandas de frecuencia a lo largo del tiempo (inserto en la figura 4-15). Los valores de potencia espectral, entre 110 y 160 Hz y entre 6 y 9 Hz para el conjunto de transiciones, se promediaron a lo largo del tiempo, para reconstruir la variación de potencia en las bandas de alta frecuencia y theta, respectivamente. Este análisis mostró que theta se desarrolló antes, de modo que precedió a la banda de alta frecuencia en 2,9 s. En la figura 4-15 se muestra el promedio de los valores de potencia en cada instante para la banda theta (círculos azules) y para la banda de alta frecuencia (cuadrados rojos), así como las sigmoides que se ajustaron a los datos. El área sombreada representa, siguiendo el mismo código de color, el intervalo de confianza del 95% para la dispersión de las nubes de puntos. Los coeficientes de determinación de los ajustes fueron 0,91 y 0,95 para las bandas theta y de alta frecuencia, respectivamente. Los tiempos transcurridos entre el 1% y el 99% del total de variación de potencia (cabezas de flecha sobre el eje de abscisas) fueron de 29,2 para las bandas theta y de 19,2 s para la de alta frecuencia.

Respecto de las relaciones de fase-potencia, el análisis de comodulación de periodos sucesivos de 5 s mostró un incremento progresivo de los valores de comodulación de la potencia de la alta frecuencia respecto de la fase theta (comodulogramas en la parte inferior de la figura 4-15). La comodulación alcanzó valores significativos 5 s antes de que la actividad de alta frecuencia alcanzara el 50% de su potencia máxima.

Estos resultados muestran que la actividad theta se desarrolló durante el periodo de transición a la fase REM antes que la de la alta frecuencia, y que alta frecuencia se acopló en fase a theta desde su inicio, sugiriendo que es la actividad theta la que organiza a la de alta frecuencia.

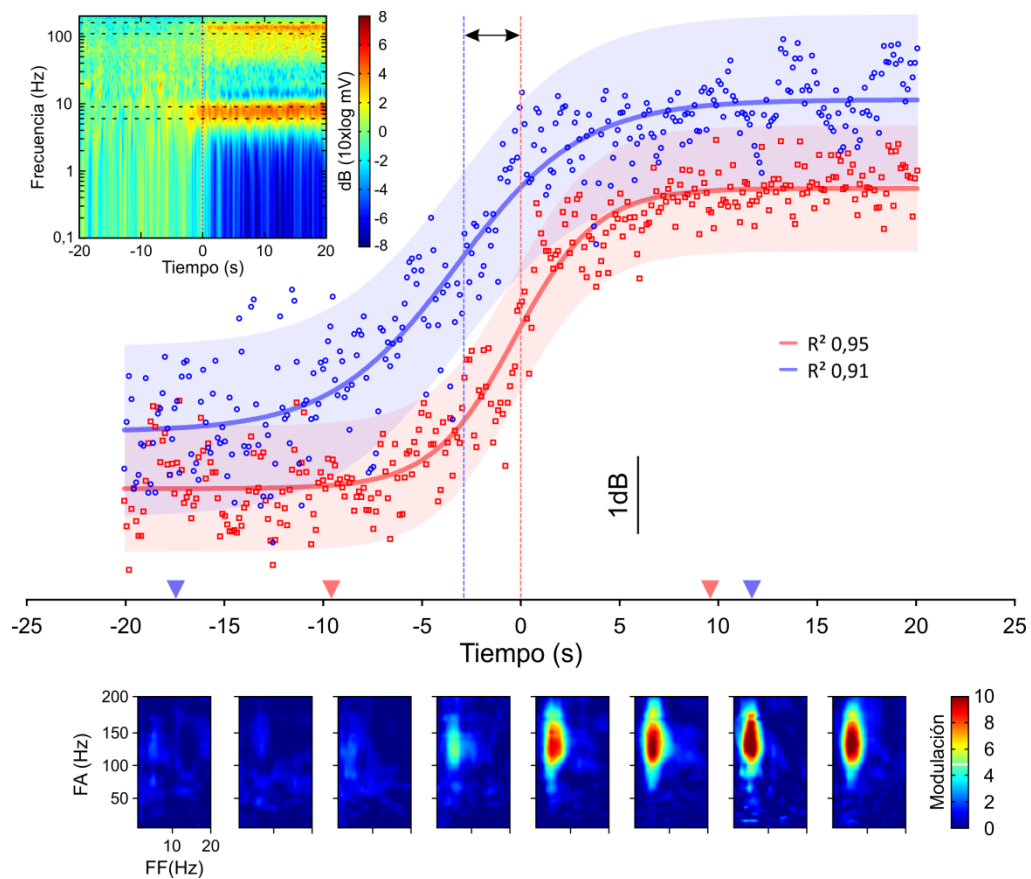


Figura 4-15. Evolución temporal de las potencias espectrales de las bandas theta y de alta frecuencia durante el periodo de transición a REM.

En la figura central se muestran las variaciones de potencia en las bandas theta (azul) y de alta frecuencia (rojo), las sigmoides que se ajustaron a los datos (líneas continuas) y los intervalos de confianza al 95% (áreas sombreadas). En el inserto superior se muestra la evolución de la potencia espectral entre 0,1 y 200 Hz durante la transición. Las líneas discontinuas verticales muestran, usando el mismo código de colores, los momentos en se alcanzaron el 50% de la potencia máxima en cada actividad. En el eje de abscisas se ha marcado el intervalo temporal correspondiente a la variación entre el 1 y el 99% de la potencia de la actividad theta (cabezas de flechas azules) y de la de alta frecuencia (cabezas de flechas rojas). Debajo del eje de abscisas se muestran los comodulogramas correspondientes a las ventanas de tiempo de 5 segundos del intervalo señalado en el eje. La línea blanca en la barra de calibración indica el límite de significación ($P < 0,001$). FA, frecuencia de la amplitud; FF, frecuencia de la fase.

4.3.3.4 Cinética de la actividad de alta frecuencia durante el periodo de transición y su relación con las variables clásicas que definen las fases NREM y REM

Para este estudio se utilizaron 5 animales y 3 transiciones de sueño NREM a REM de cada animal. Como variables clásicas se tuvieron en cuenta: i) la actividad EEG, en la que se detectaron los husos de sueño, se cuantificaron el desarrollo de la alta frecuencia y el de la extinción de la actividad delta; ii) la pérdida de tono muscular en la musculatura del cuello; y, iii) la aparición de los primeros movimientos oculares rápidos, registrados por la técnica del seguidor magnético de la posición ocular. Para cuantificar las cinéticas, se eligieron intervalos temporales de 100 s (desde 50 s antes hasta 50 s después del inicio de la actividad de alta frecuencia) correspondientes a las transiciones. En la figura 4-16 se muestra una transición representativa entre NREM y REM, en la que se ilustra el tratamiento empleado en el análisis. Para cada transición, se realizó un ajuste por mínimos cuadrados a una sigmoide de Boltzmann de las variaciones temporales de la potencia espectral en las bandas de alta frecuencia (110-160 Hz) y delta (1-5 Hz). De modo similar, se rectificó e integró la actividad muscular y se hizo también un ajuste a una sigmoide de Boltzmann. Para cada transición, se anotaron, por último, los momentos de ocurrencia del último huso de sueño (asterisco en figura 4-16) y el del primer movimiento rápido del ojo (cabeza de flecha en figura 4-16).

El ajuste de la sigmoide de Boltzmann de la envolvente de la señal de alta frecuencia en cada episodio fue muy bueno y mostró coeficientes de determinación entre 0,83 y 0,97. La evolución de la actividad de alta frecuencia, medida como el intervalo de tiempo entre el 1 y el 99% del valor de amplitud máxima para el ajuste, mostró una duración promedio de $16,6 \pm 3,8$ s.

El análisis de estos datos permitió obtener una representación gráfica del orden temporal en que ocurrieron los acontecimientos polisomnográficos que caracterizaron el periodo de transición entre las fases NREM y REM. En la figura 4-17 se representa, en gris, el promedio de las sigmoides de ajuste a la evolución de la potencia espectral en la banda de alta frecuencia durante el periodo de transición. La zona sombreada sobre la curva de ajuste a la alta frecuencia representa la desviación estándar para el conjunto de observaciones. Sobre la sigmoide promedio, se ha representado el intervalo en que delta descendió del 90% al 10% de su potencia máxima (intervalo coloreado en azul), el intervalo en que el tono muscular descendió desde el 90% al 10% de su actividad máxima (intervalo coloreado en rojo) y los instantes de ocurrencia del último huso y del primer movimiento rápido del ojo.

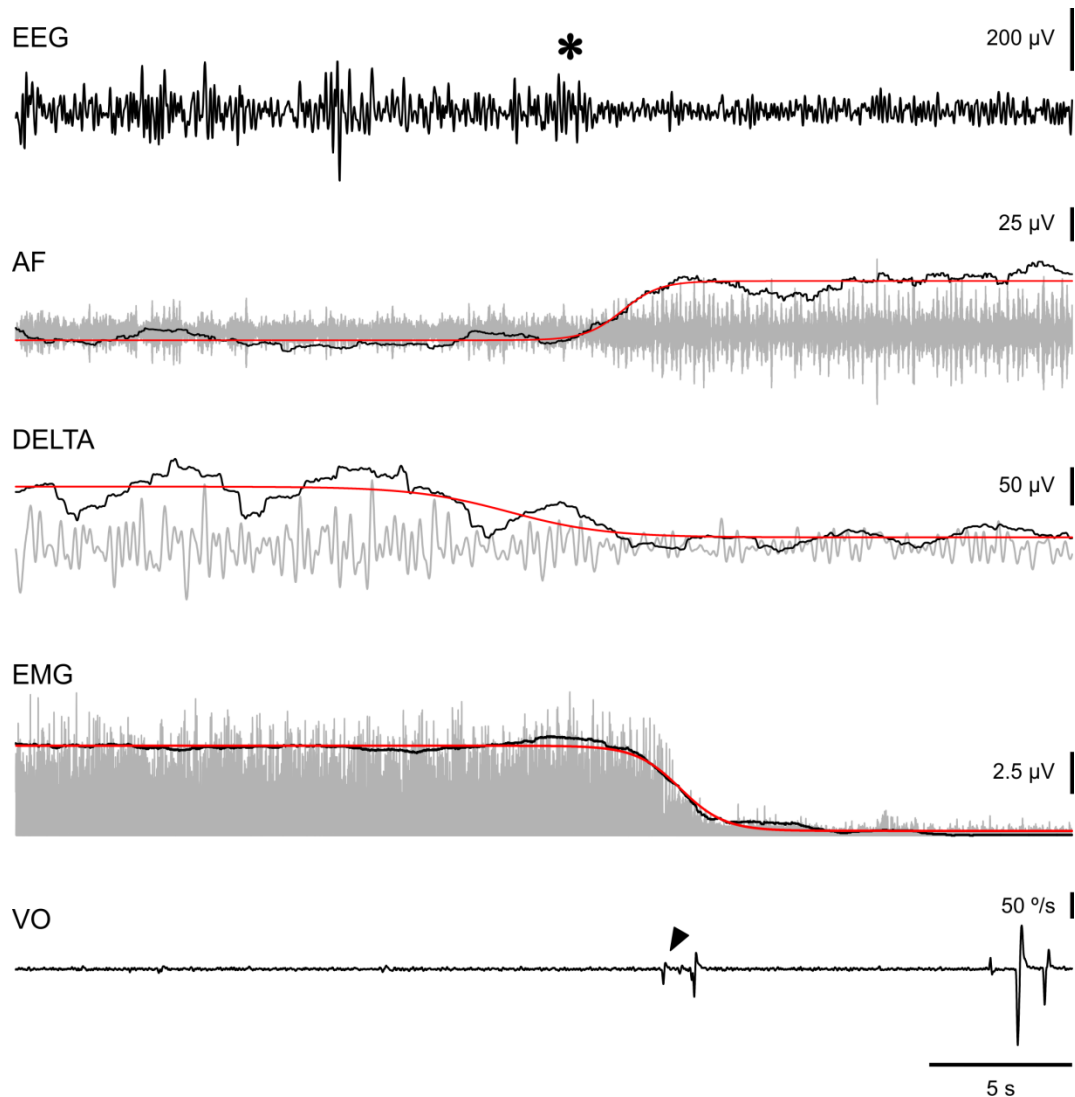


Figura 4-16. Tratamiento de los datos de un periodo de transición representativo.

Se muestran, de arriba a abajo, la actividad electroencefalográfica (EEG), la actividad EEG entre 110 y 160 Hz (AF), entre 1 y 5 Hz (DELTA), la actividad electromiográfica rectificadas (EMG) y la velocidad ocular (VO). En los trazos correspondientes a AF, DELTA y EMG, se ha representado su envolvente (trazo negro) y la sigmoide de ajuste a la envolvente (trazo rojo). El asterisco marca el momento de ocurrencia del último huso de sueño y la cabeza de flecha el del primer movimiento ocular rápido.

Tomando como referencia el momento en que la alta frecuencia alcanzó el 10% de su potencia máxima, la caída de la banda delta, al 10% de su potencia, fue el primer fenómeno que ocurrió (latencia de $-0,1 \pm 1,2$ s). Para este intervalo, el valor de potencia para la actividad de alta frecuencia varió entre el 6 y el 17% de su valor máximo. El siguiente fenómeno que ocurrió fue el último huso de sueño (latencia de $5,0 \pm 0,9$ s), cuando el valor de potencia para las altas frecuencias varió entre el 52 y el 74% de su valor máximo. A continuación tuvo lugar el primer movimiento ocular rápido, que ocurrió a los $5,5 \pm 0,6$ s, cuando el valor de potencia para la banda de alta frecuencia varió entre el 62 y el 76%. Por último, se desarrolló la atonía

muscular, de modo que la caída del tono muscular al 10% de su valor máximo ocurrió a los $10,7 \pm 1,7$ s, lo que se correspondió con una variación de potencia de la banda de alta frecuencia de entre el 94 y el 99% de su valor máximo.

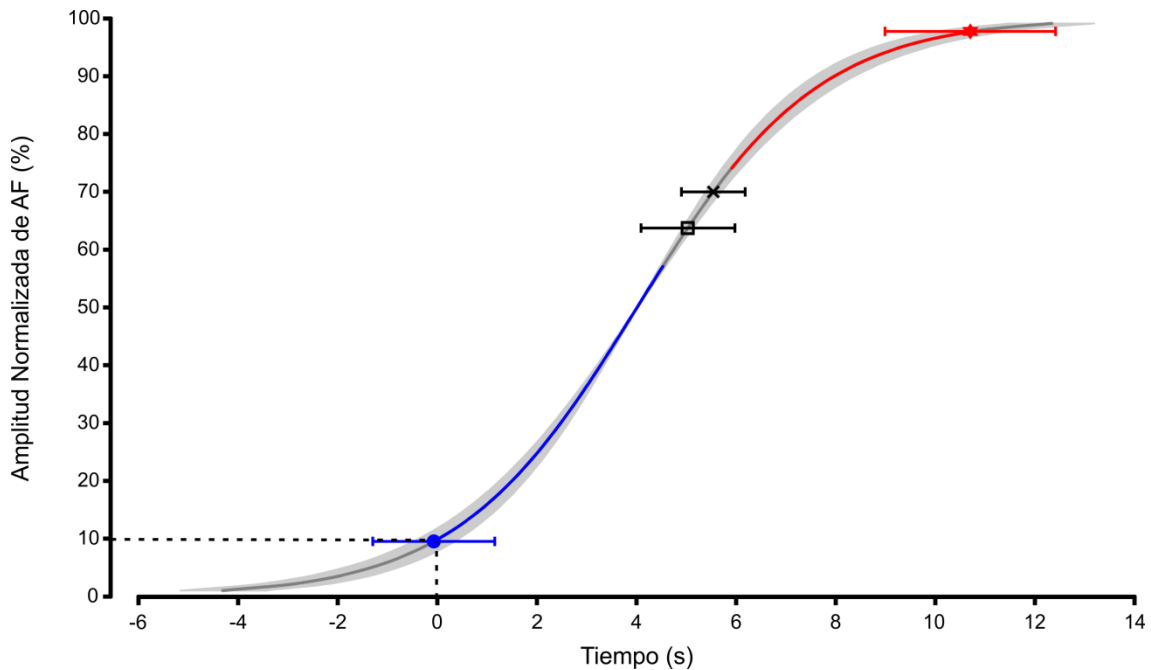


Figura 4-17. Organización temporal de las variables polisomnográficas durante el periodo de transición a REM. Sobre la sigmoide de ajuste a la variación de la potencia espectral normalizada de la banda de alta frecuencia (trazo gris) se representan los tiempos medios en los que ocurrieron un descenso del 90% en la actividad delta respecto de NREM (punto azul), el último huso de sueño (cuadrado), el primer movimiento ocular rápido (X) y el descenso del 90% en el tono muscular (estrella roja). También se representan, sobre la sigmoide, los intervalos de tiempo en que la potencia de delta (trazo azul) y el tono muscular (trazo rojo) pasaron del 90% hasta el 10% de sus valores medios durante NREM. Las barras de error representan la desviación estándar de cada variable y el área gris la desviación estándar del instante asociado a la potencia de la alta frecuencia.

Estos resultados muestran que, la cinética de la variación en potencia de la actividad de alta frecuencia, permite definir de manera precisa un periodo, relativamente corto, que contiene a todos los indicadores que se han utilizado clásicamente para describir la transición entre las fases NREM y REM. Estos resultados explican, además, el orden temporal preciso en que ocurrieron todos los acontecimientos de la transición y permite entender las discrepancias que existen en la literatura sobre la duración del periodo de transición en función del parámetro utilizado.

4.3.3.5 Mapa cortical de las oscilaciones de alta frecuencia

Como se explicó en el apartado 3.6.4 de la sección de MÉTODOS, para realizar la cartografía cerebral de la oscilación de alta frecuencia, se utilizaron 13 animales a los que se les implantaron 18 electrodos, que se repartieron por la calota craneana con la disposición que se muestra en la figura 4-18. La actividad EEG de cada localización se re-referenció respecto de la actividad EEG promedio y se calculó la ratio de la actividad durante la fase REM respecto de la de NREM. En la figura 4-18 se muestra, para cada una de las localizaciones, la ratio promedio en la banda entre 40 y 200 Hz. Las mayores potencias relativas, en la banda entre 110 y 160 Hz, se localizaron sobre las cortezas centroparietales de ambos hemisferios (línea discontinua en la figura 4-18), fundamentalmente sobre las cortezas motoras primaria y secundaria, somatosensorial primaria del tronco y parietal asociativa. Más concretamente, la mayor potencia se localizó sobre la corteza sensorio-motora correspondiente al tronco y la corteza motora primaria (localización de -3 mm anteroposterior y 2 mm lateral respecto de Bregma; Paxinos y Watson ref. 2007). La potencia espectral relativa en esta banda decayó conforme los electrodos se fueron alejando respecto de esta región.

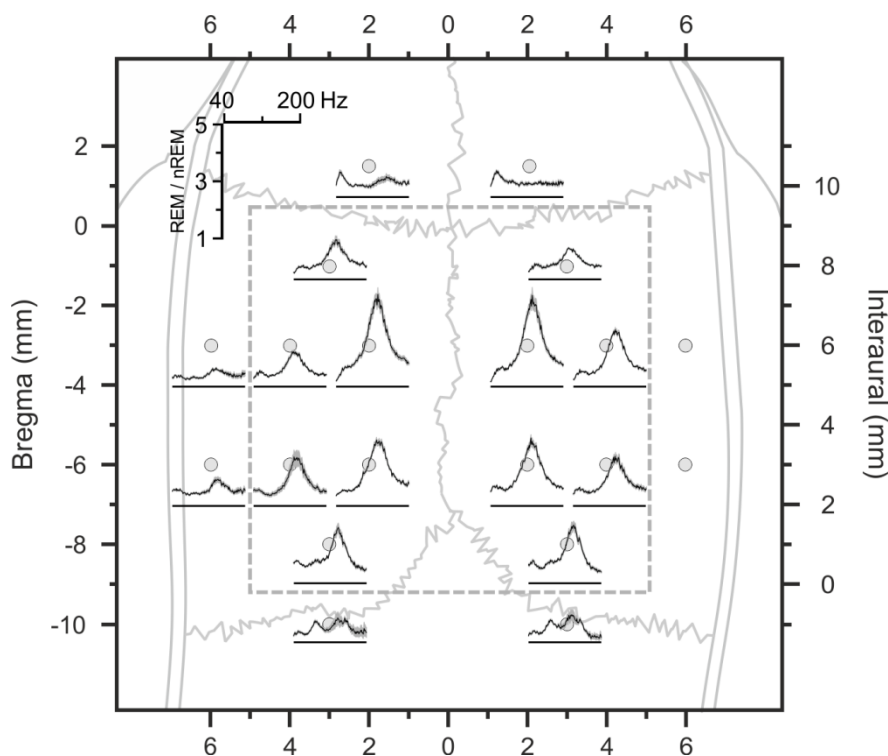


Figura 4-18. Distribución cortical de las actividades de alta frecuencia durante REM respecto de NREM.

Sobre un dibujo esquemático del cráneo de la rata (gris), enmarcado por el mapa estereotáxico, se representan las posiciones de los electrodos de registro (círculos). Sobre cada electrodo, se muestra la potencia espectral media del EEG durante la fase REM respecto de la de NREM (trazos negros) y su desviación estándar (área sombreada) en el rango entre 40 y 200 Hz. Nótese que el pico de potencia de la banda de alta frecuencia fue mayor sobre la región centro-parietal (localizaciones delimitadas por línea gris discontinua).

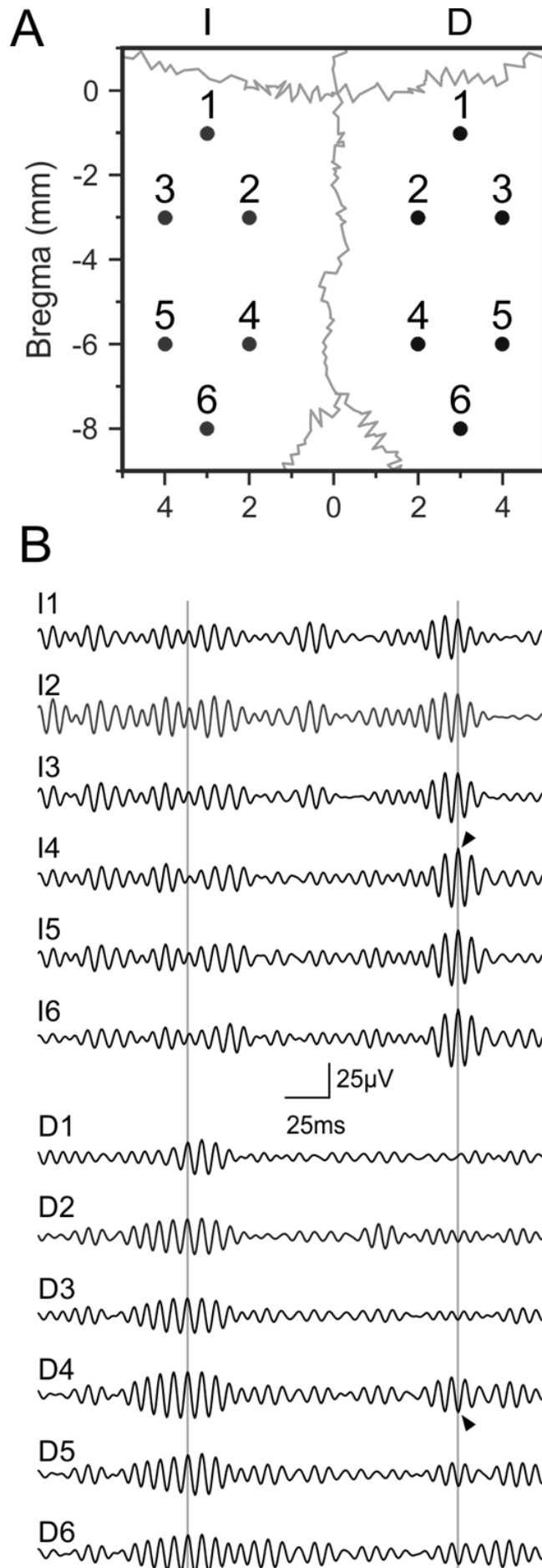


Figura 4-19. Organización temporal de las altas frecuencias.

A. Representación esquemática de la situación de los electrodos, en los que se registraron las mayores potencias espectrales en la banda de alta frecuencia, sobre los hemisferios izquierdo (I) y derecho (D). B. Fragmento de registro representativo durante la fase REM en las localizaciones numeradas en A. La primera línea gris es una marca temporal de la ocurrencia de un brote de alta frecuencia en el hemisferio derecho y la segunda en el hemisferio izquierdo. Nótese la no coincidencia de los brotes de alta frecuencia entre hemisferios. Nótese también que, cuando hubo cierta actividad de alta frecuencia en los dos hemisferios, se produjo una inversión de fase de los ciclos (cabezas de flecha).

4.3.3.6 Organización cortical de las altas frecuencias

Para estudiar la organización cortical de la actividad de alta frecuencia, se realizó un análisis de las señales que se registraron en las doce localizaciones que mostraron las mayores potencias relativas durante sueño REM (figura 4-19A). El filtrado en la banda entre 110 y 160 Hz en estos electrodos, puso de manifiesto la existencia de una organización cortical en la que los brotes de actividad tendieron a ocurrir simultáneamente entre los electrodos del mismo hemisferio, pero no entre hemisferios. La figura 4-19B muestra un intervalo temporal representativo de las señales filtradas entre 110 y 160 Hz que se registraron en las localizaciones que se indican en la figura 4-19A. Como se puede observar en esta figura, la aparición de un primer brote (primera línea gris vertical) mostró una amplitud y fase muy similar en todas las localizaciones en el hemisferio derecho (D1-D6), mientras se mostró desorganizada en el hemisferio izquierdo (I1-I6). En la misma figura, un poco más adelante en el tiempo, se puede observar otro brote de alta frecuencia, esta vez en el hemisferio izquierdo (segunda línea gris vertical), que mostró una forma y amplitud homogénea ahora en este hemisferio, pero no en el derecho.

4.3.3.6.1 Relación de fase entre theta y los brotes de alta frecuencia en distintas localizaciones

Como se mostró anteriormente en el análisis de comodulación, los brotes de alta frecuencia mostraron una relación de fase con la oscilación theta. Sin embargo, este análisis, si bien es muy potente para identificar la existencia o no de relaciones de fase dependientes de la frecuencia, no da información cuantitativa sobre las diferencias de fase. Para estudiar esta relación de fase y si era constante o variaba entre las distintas regiones corticales, se realizó un análisis de fase más detallado para cada localización. Para ello, se calcularon las relaciones de fase entre theta y la envolvente de la actividad de alta frecuencia (figura 4-20) para cada una de las localizaciones donde la actividad de alta frecuencia fue más prominente (figura 4-19A). En la figura 4-20A, se representa la relación de fase entre el ritmo theta y la envolvente de la actividad de alta frecuencia en las diferentes localizaciones de un mismo hemisferio. El sector en rojo en cada representación circular, muestra el intervalo de confianza al 95% para el valor de fase promedio en cada localización, mientras que el área sombreada en gris representa el histograma de distribución para todas las observaciones. Como se puede observar, la relación fue variando entre las distintas localizaciones. Así, en la localización más anterior el desfase

promedio fue de $-2,15 \pm 1,51^\circ$ y fue incrementando progresivamente en dirección anteroposterior hasta alcanzar los $29,75 \pm 0,99^\circ$ en la localización más posterior.

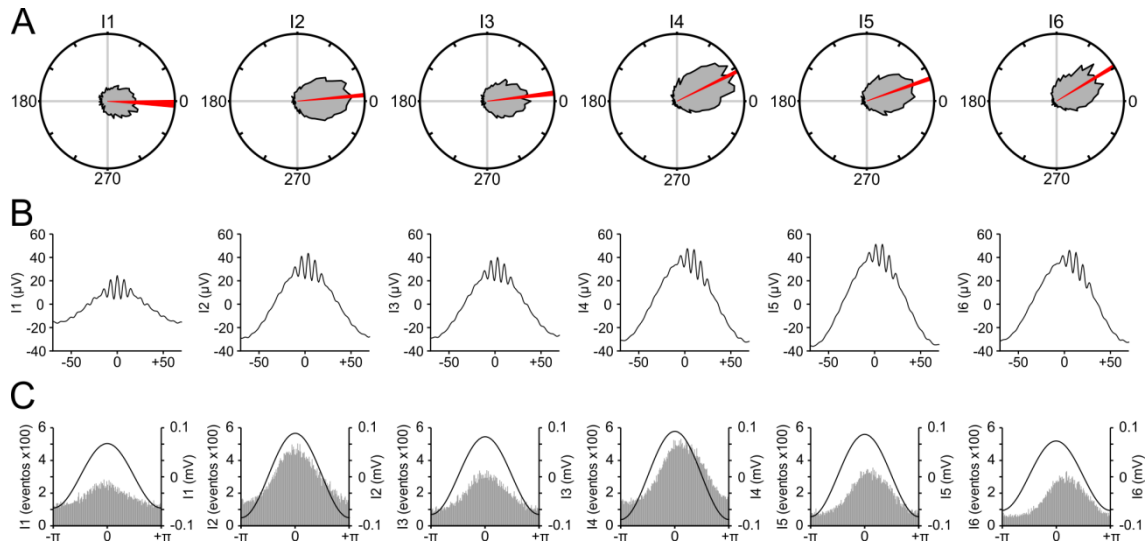


Figura 4-20. Relación de fase entre theta y los brotes de alta frecuencia.

A. Representación polar de la relación de fase entre theta y la envolvente de la actividad de alta frecuencia, en las diferentes localizaciones del hemisferio izquierdo numeradas en la figura 4-19. Se representa el histograma de distribución de la fase para cada localización (área en gris) y el intervalo de confianza al 95% para la media de la distribución (sector en rojo). Nótese la variación gradual de la fase entre diferentes localizaciones. B. Actividad promediada, en cada localización, en base al pico de potencia de las oscilaciones de alta frecuencia. Nótese la reconstrucción de la actividad de alta frecuencia sobre la onda theta, la diferencia de amplitud para theta y alta frecuencia en cada localización, y el cambio de fase entre localizaciones. En el eje de abscisas se representa el tiempo en ms, referenciado al pico máximo de la onda theta. C. Reconstrucción de la actividad theta promedio, registrada en cada localización (trazo negro) y el histograma de distribución de los picos de alta frecuencia (histograma gris). Nótese el corrimiento del pico del histograma respecto de la fase de theta (eje de abscisas) en cada localización.

Una representación más intuitiva de los cambios de relación de fase entre la actividad de alta frecuencia y theta se obtuvo promediando la actividad que se registró en cada ubicación, usando como sincronizador los eventos correspondientes a la ocurrencia de los picos de alta frecuencia en la actividad filtrada. El promedio de la actividad reconstruyó un ciclo de theta y mostró, sumada sobre theta, una actividad de alta frecuencia que se fue retrasando respecto del pico de theta, desde los electrodos más rostrales hasta los más caudales (figura 4-20B). Así pues, mientras que en la localización más anterior, el brote de alta frecuencia se localizó sobre el máximo del ciclo de theta, en las localizaciones posteriores se produjo un desfase que fue incrementando hacia las localizaciones más posteriores. Como se puede observar en la figura 4-20B, la actividad reconstruida de los ciclos de theta fue menor en el electrodo más rostral, intermedia en I2 e I3 y mayor en los electrodos I4 a I6.

En la figura 4-20C, se muestran el trazo correspondiente a la actividad promedio en cada localización y el histograma de distribución de los picos para la oscilación de alta frecuencia, empleando en ambos casos el pico de amplitud de theta como sincronizador. En coherencia con los desfases encontrados en la alta frecuencia respecto de theta, el máximo del histograma de la distribución de la alta frecuencia presentó, respecto de theta, un desfase menor en las localizaciones más anteriores y fue incrementando en sentido anteroposterior. No obstante, a diferencia de la reconstrucción de theta al promediar la actividad EEG respecto de las oscilaciones de alta frecuencia (figura 4-20B), los histogramas de distribución de eventos respecto de theta no reconstruyeron los ciclos de alta frecuencia (figura 4-20C). Este resultado sugiere que, respecto de la fase de theta, cada ciclo de alta frecuencia debió mostrar cierta variabilidad y que, por tanto, fue la potencia de los brotes de alta frecuencia, y no la fase de cada ciclo, lo que se acopló a la fase de theta. En otras palabras, estos resultados descartaron la existencia de un acoplamiento de tipo fase-fase entre estas dos oscilaciones.

4.3.3.6.2 Coherencias de las actividades en un hemisferio y entre hemisferios

Para profundizar más en la cuantificación de las relaciones temporo-espaciales intra- e interhemisféricas, se realizó un análisis de coherencia espectral entre todas las parejas de electrodos. Este análisis permitió cuantificar la correlación temporal entre las actividades que registró cada electrodo para cada frecuencia. El análisis se realizó solo entre los electrodos que mostraron una mayor potencia espectral relativa en la banda de alta frecuencia (cuadrado gris en figura 4-18). En la figura 4-21A se muestra la coherencia media en la banda entre 1 y 300 Hz para todas las parejas de electrodos de un mismo hemisferio y para todas las parejas entre electrodos de los dos hemisferios, excluyendo, en ambos casos, las comparaciones de cada localización consigo misma, puesto que su coherencia sería de 1. Las coherencias entre los electrodos de un mismo hemisferio fueron mayores que las coherencias entre hemisferios. En ambos casos, las coherencias más altas se dieron en el rango de las bajas frecuencias y, especialmente, en el rango de theta, en el que se alcanzaron valores de $0,97 \pm 0,02$ y $0,93 \pm 0,02$ para las parejas intra- e interhemisféricas, respectivamente (figura 4-21B). No se encontraron diferencias significativas entre estas comparaciones en la banda de theta (t-Student $T=1,85$; $P=0,14$). A partir de los 15 Hz se produjo un descenso de la coherencia que fue más acusado en el caso de las parejas entre hemisferios, siendo especialmente baja en el rango de las oscilaciones de alta frecuencia. La coherencia espectral en la banda de alta

frecuencia mostró valores promedio de $0,75 \pm 0,09$ y $0,02 \pm 0,01$ para las parejas intra- e interhemisféricas, respectivamente (t -Student $T=20,23$; $P<0,001$) (figura 4-21B).

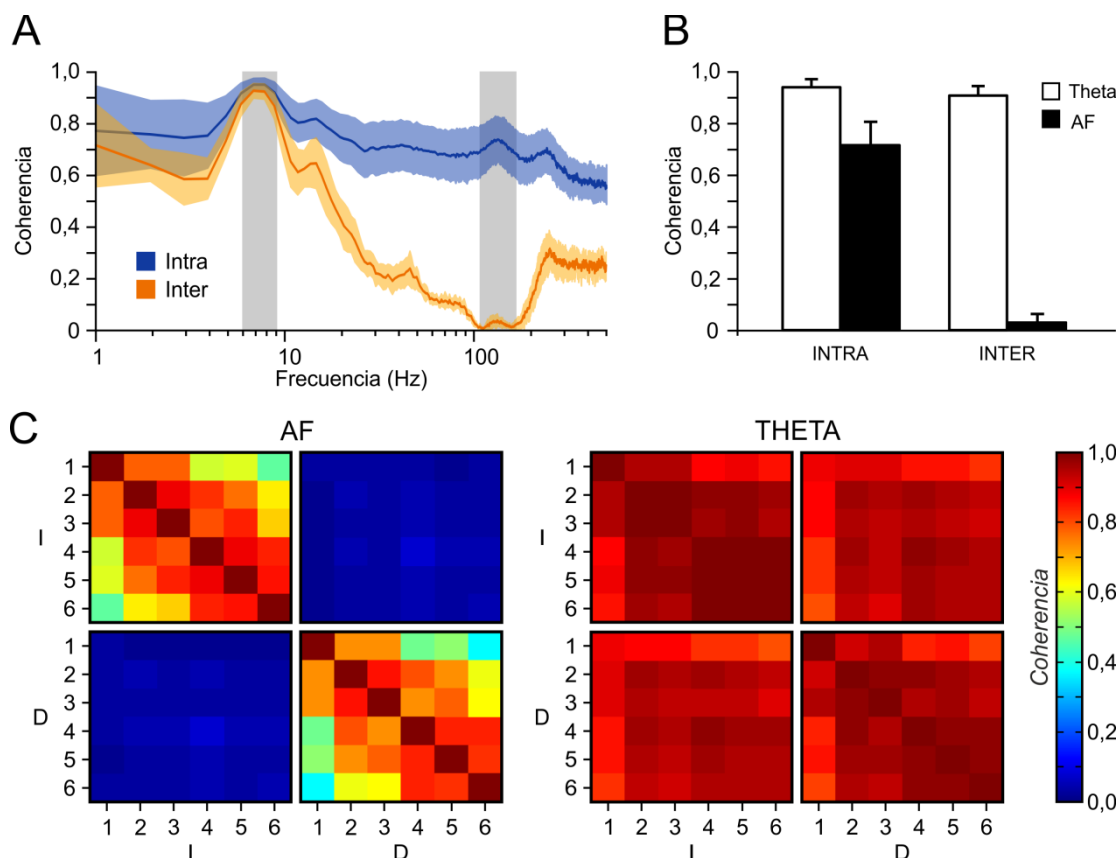


Figura 4-21. Coherencia espectral de las actividades theta y de alta frecuencia durante REM.

A. Representación de la coherencia media y la desviación en el rango de frecuencias entre 1 y 500 Hz entre parejas de electrodos del mismo (trazo y área sombreada azul, respectivamente) o de diferentes hemisferios (trazo y área sombreada naranja, respectivamente). Los valores máximos de coherencia se alcanzaron en la banda theta (primer rectángulo gris en A), con independencia de si se calcularon para localizaciones intra- o interhemisféricas (barras blancas en B). En la banda de alta frecuencia (segundo rectángulo gris en A), los valores de coherencia fueron elevados para un mismo hemisferio y próximos a cero entre hemisferios (barras negras en B). C. Representación mediante códigos de color, de los valores medios de coherencia en la banda de alta frecuencia (AF) y de theta (THETA) para todas las parejas posibles de electrodos, numerados en base a su localización en la figura 4-19. I, izquierda; D, derecha.

En la figura 4-21C se representa, en código de colores, los valores de coherencia espectral media para cada una de las parejas de electrodos en la banda de alta frecuencia (izquierda) y en la banda theta (derecha). Como se puede observar, en el caso de las altas

frecuencias, las mayores coherencias se alcanzaron entre electrodos del mismo hemisferio. Los valores de coherencia espectral más elevados se produjeron entre las parejas de electrodos cuyas localizaciones fueron más cercanas. Para el resto de las parejas, la coherencia fue decayendo con la distancia entre electrodos de la pareja. En el caso de las parejas entre hemisferios, los valores fueron cercanos a cero para todas las parejas. En la banda de theta, todas las parejas, con independencia de que fueran entre electrodos de un mismo hemisferio o entre hemisferios, mostraron valores elevados de coherencia espectral.

4.3.3.6.2.1 Relaciones de fase entre localizaciones de un mismo hemisferio

El análisis de coherencia espectral no solo da información sobre la constancia de la relación de fase entre dos señales, sino que también permite calcular, cuando existe coherencia, el grado de desfase entre las mismas. Una comparación detallada de las actividades en las bandas de theta y de alta frecuencia, en diferentes localizaciones, mostró la existencia de pequeñas variaciones de fase, que fueron dependientes de la localización de cada electrodo. Ya que estas diferencias podrían aportar información sobre el origen y el sentido de la propagación de estas actividades, se realizó un estudio de las relaciones de fase entre todas las posibles parejas de electrodos, para las actividades en las bandas de theta y alta frecuencia.

La figura 4-22A muestra el resultado del análisis de fase de la actividad en la banda theta, entre parejas de electrodos del mismo y de los dos hemisferios. Tras ordenar los electrodos por su desfase, se observó que, con independencia de si la comparación se realizó entre los electrodos de un hemisferio o entre los de ambos, los mayores desfases se produjeron entre los electrodos 4 y 1, fueron intermedios entre el electrodo 4 y los electrodos 3 y 5, y mostraron las menores diferencias entre el electrodo 4 y los electrodos 2 y 6. Según estos resultados, teniendo en cuenta los desfases entre las distintas ubicaciones y sus signos, la actividad theta pareció irradiar desde una posición cercana al electrodo 4 hacia el resto de ubicaciones (figura 4-22D, diagrama sobre el hemisferio derecho). Como el desfase máximo entre los electrodos 4 y 1 fue en promedio de $11,83 \pm 3,51^\circ$ y la duración promedio de un ciclo de theta fue de $135,4 \pm 1,2$ ms, el desfase temporal entre estas localizaciones fue de $4,45 \pm 1,32$ ms. En base a la distancia entre estas localizaciones, se calculó que la velocidad de propagación para la actividad theta varió entre 0,9 y 1,6 m/s (media 1,1 m/s).

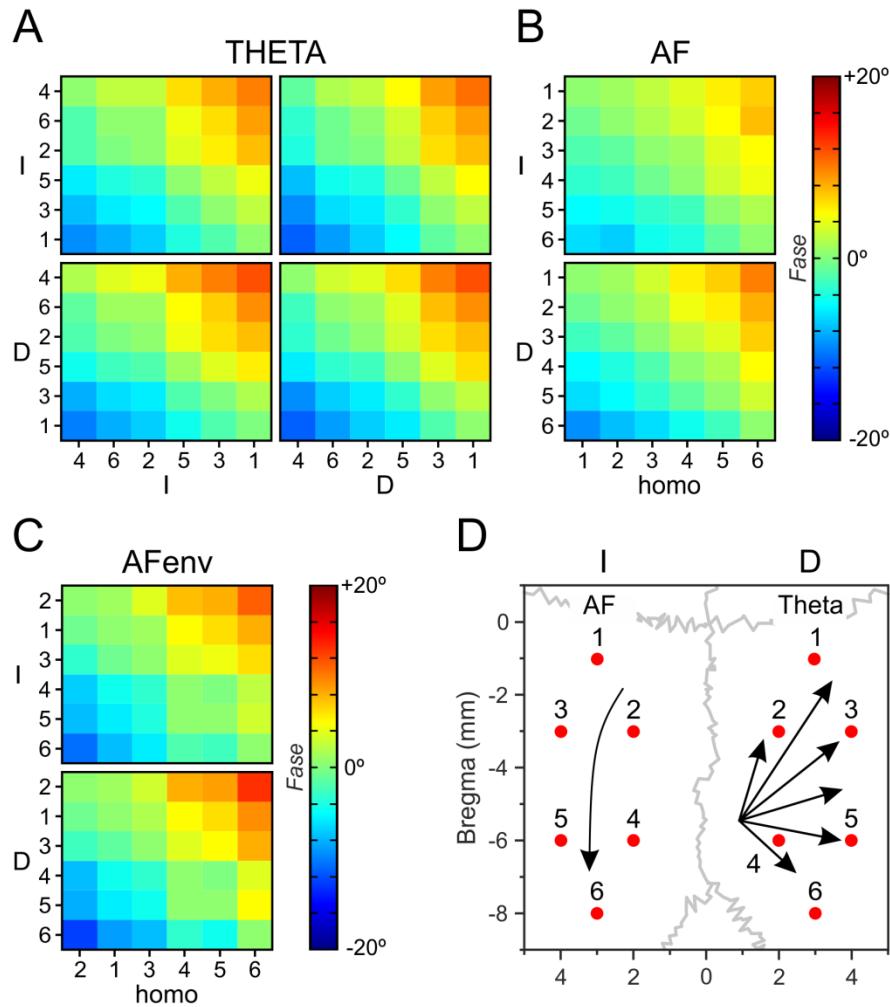


Figura 4-22. Relación de fase entre localizaciones y patrones de propagación de las actividades theta y de alta frecuencia.

Relación de fase, en código de color, entre las actividades de parejas de electrodos del mismo o diferente hemisferio para la banda theta (A) y de los del mismo hemisferio para la actividad de alta frecuencia (AF) (B) y para la envolvente de alta frecuencia (AFenv) (C). Nótese que los electrodos, numerados por su localización en D, se han ordenado en A, B y C en base al grado de desfase para cada tipo de actividad. D. Reconstrucción, sobre el hemisferio derecho, de la dirección de propagación de la actividad theta en base a los datos representados en A, y de la propagación de la actividad de alta frecuencia sobre el hemisferio izquierdo, en base a los datos representados en B. I, izquierda; D, derecha; homo, homolateral.

Un tratamiento similar se realizó para las oscilaciones en la banda de la alta frecuencia. En la figura 4-22B se muestra el resultado del análisis de fase para la banda de alta frecuencia, para las actividades entre electrodos de un mismo hemisferio. En este caso no fue necesario reorganizar los electrodos sobre la figura, ya que las diferencias de fase estuvieron ordenadas prácticamente tal como se habían numerado los electrodos. Así, las mayores diferencias se encontraron entre los electrodos más alejados (1 y 6), seguidas por las diferencias entre el electrodo 1 y los 4 y 5; y, fueron menores entre el electrodo 1 y los electrodos 2 y 3. Según los

valores de los desfases y su signo, el origen de la actividad de alta frecuencia se localizó en la región comprendida entre las localizaciones de los electrodos 1 y 2, y se propagó hacia el electrodo 6, como se muestra en el esquema de la figura 4-22D, sobre el hemisferio izquierdo. El desfase máximo entre el origen y la localización más distante fue de $8,20 \pm 2,03^\circ$ (n=5). Dado que la duración promedio de un ciclo de alta frecuencia fue de $7,6 \pm 0,04$ ms (n=5), el desfase entre estas dos localizaciones fue de $0,16 \pm 0,04$ ms. En base a la distancia entre el origen y la localización 6, la velocidad de propagación para la actividad de alta frecuencia varió entre 27,8 y 46,1 m/s (media 34,7 m/s). El análisis de fase entre hemisferios no se realizó porque las coherencias entre los electrodos de ambos hemisferios fueron cercanas a cero.

Dado que, como se ha visto antes, la potencia de la alta frecuencia mostró estar en fase con theta (figura 4-14B), que los valores de fase fueron diferentes en cada localización cortical (figura 4-20A y B) y que fue la potencia de los brotes de alta frecuencia, y no la fase de cada ciclo de alta frecuencia (figura 4-20C), la que se acopló a la fase de theta, se estudió si la envolvente de los brotes de alta frecuencia mostraría una organización cortical similar a la de theta. Para ello, para cada localización se filtró la señal original entre 110 y 160 Hz, se calculó su envolvente y se analizó la relación de fase existente entre los máximos de las envolventes. Como se puede observar en la figura 4-22C, el resultado del análisis de fase para la envolvente de los brotes de alta frecuencia en los diferentes electrodos, mostró una organización muy similar a la que siguieron los ciclos de alta frecuencia (figura 4-22B), pero no a la relación de fase de theta (figura 4-22A). Así, se encontró que, los desfases más pequeños ocurrieron entre la ubicación 2 y la de los electrodos más próximos, y que los desfases fueron creciendo, respecto del electrodo 2, hacia la ubicación del electrodo 6. Teniendo en cuenta los valores y los signos de los desfases, se encontró que el origen de la envolvente ocurrió cerca del electrodo 2 y que la actividad se propagó hacia las regiones más caudales. El desfase promedio entre las localizaciones 2 y 6 fue de $11,86 \pm 3,93^\circ$. Dado que la duración promedio de la envolvente de alta frecuencia fue de $132,1 \pm 1,0$ ms, el desfase entre las localizaciones 2 y 6 fue de $4,35 \pm 1,44$ ms. En base a la distancia entre estas localizaciones, se calculó que la velocidad de propagación de la envolvente de los brotes de alta frecuencia varió entre 0,9 y 1,8 m/s (media 1,2 m/s).

Así pues, el origen y la propagación de la actividad de alta frecuencia, medida a partir de los ciclos o a partir de la envolvente de los brotes, fueron rostral y en dirección caudal, respectivamente. Esto fue muy diferente de lo que mostró la actividad theta, la cual se originó posterior y medialmente y se propagó radialmente en todas direcciones. Pero además, la velocidad de propagación de la envolvente fue mucho menor que la que se calculó para los

ciclos de alta frecuencia. Para intentar dilucidar esta discordancia, se estudiaron las relaciones temporales entre la envolvente de los brotes y los ciclos de alta frecuencia dentro de cada brote. En la figura 4-23A se muestra un ejemplo representativo de un brote de alta frecuencia (trazo negro) y su envolvente (trazo gris), que se registró en las diferentes localizaciones del hemisferio izquierdo (I1-I6). Como se puede observar, el pico de la envolvente estuvo más desplazado hacia la primera parte del brote en los electrodos más rostrales y se fue retrasando, dentro del brote, en los electrodos más caudales (línea roja en la figura 4-23A). Un análisis de la amplitud de la envolvente respecto de los ciclos del brote para un total de 50 brotes (figura 4-23B) mostró que los máximos de las envolventes fueron retrasándose progresivamente desde los electrodos rostrales a los caudales (línea roja). El retraso entre los electrodos 2 y 6 fue de 3,5 ms, que estuvo en el rango ($4,35 \pm 1,44$ ms) que se obtuvo del análisis de fase de las envolventes.

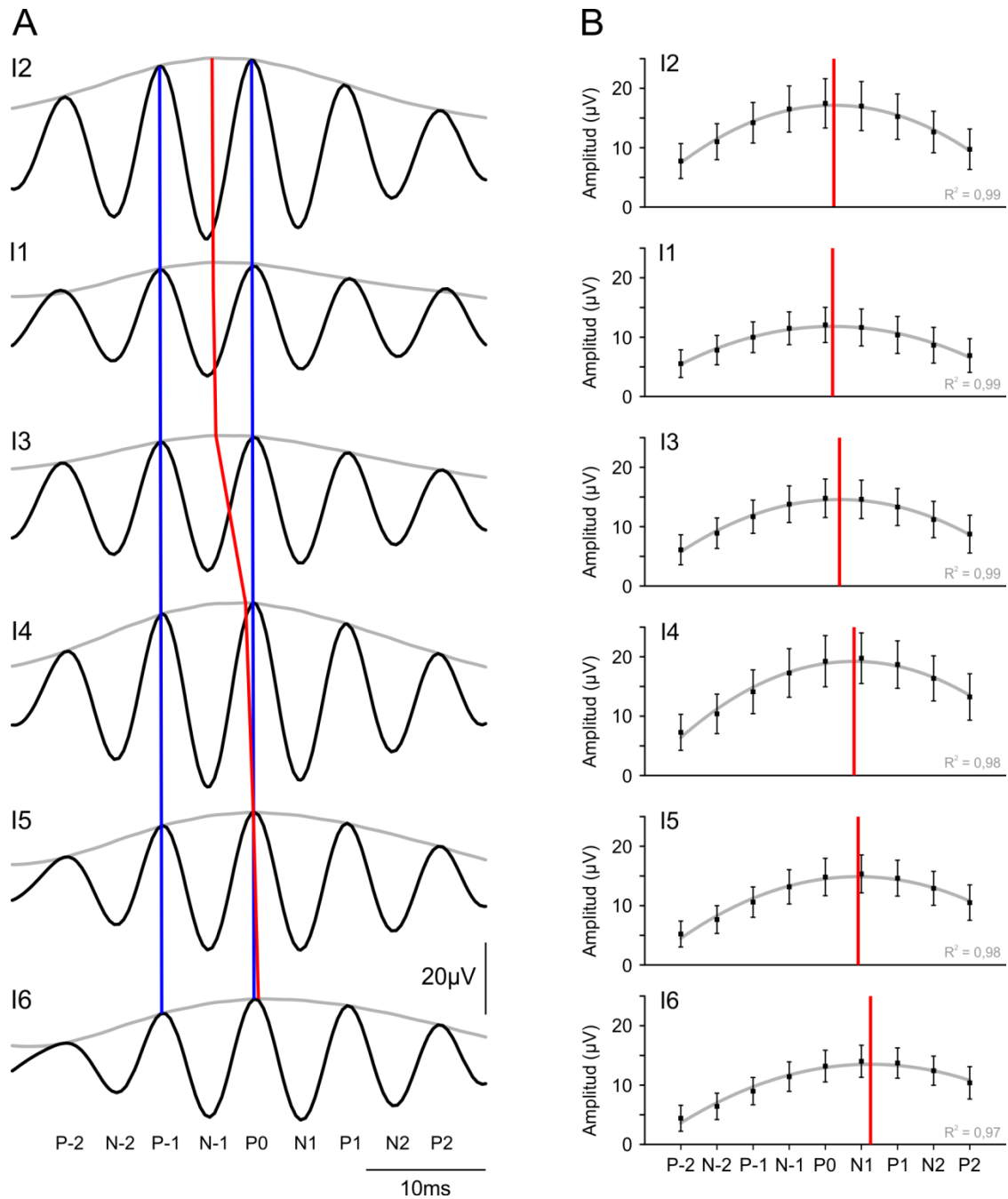


Figura 4-23. Origen de la relación de fase para la envolvente de la actividad de alta frecuencia.

A. Representación de un brote de alta frecuencia en diferentes localizaciones del hemisferio izquierdo, según la identificación de electrodos de la figura 4-22. Sobre cada brote se muestra la envolvente (trazo gris) tras rectificar la señal. Los dos trazos en azul unen los picos positivos en P-1 y P0, y el trazo rojo une los máximos de la envolvente. Nótese el desfase entre los ciclos de alta frecuencia y la envolvente. B. Representación de la amplitud media (puntos negros) y su desviación estándar (barras) para 50 brotes de alta frecuencia, en cada localización. El trazo gris representa el mejor ajuste a los puntos y, el trazo rojo, el momento del máximo de la curva. Nótese el cambio gradual de localización del pico máximo, como resultado de la proporción entre los picos de potencia de la oscilación de alta frecuencia.

4.3.3.6.2.2 Relaciones de fase entre localizaciones de los dos hemisferios

Como se mostró anteriormente, la coherencia espectral en la banda de alta frecuencia entre las actividades que se registraron en los dos hemisferios, fue muy baja (figura 4-21). Sin embargo, un análisis de los ciclos de alta frecuencia entre localizaciones simétricas de ambos hemisferios, mostró que, aunque los ciclos de alta frecuencia de ambos hemisferios sólo coincidieron el 38,2% de las veces, cuando lo hicieron, tendieron a ocurrir en oposición de fase (figura 4-19B, cabezas de flecha).

Para analizar más en detalle esta relación entre hemisferios, se filtraron las actividades en la banda de alta frecuencia, se generaron los eventos correspondientes a los ciclos de alta frecuencia y se estudiaron las correlaciones entre los eventos. En la figura 4-24A se representa el promedio de la actividad que se registró en las localizaciones I2 y D2 usando la ocurrencia de los ciclos de los brotes en I2 como sincronizador. Como se puede observar, en ambos hemisferios se reconstruyeron sendas señales lentas, ambas en el rango de theta y que tuvieron igual amplitud y fase. Sin embargo, la señal correspondiente a la actividad de alta frecuencia, que se localizó sobre la onda theta, mostró una oposición de fase entre los dos hemisferios. La amplitud de la actividad de alta frecuencia en el hemisferio contralateral al que se usó para sincronizar el promedio, fue solo un $24,12 \pm 3,72\%$ ($n=10$) de la amplitud en el hemisferio de referencia. Estos resultados sugirieron que, o bien, en los casos en los que hubo coincidencia de la actividad de alta frecuencia entre hemisferios, la actividad en un hemisferio fue dominante en magnitud respecto del otro; o, que la ocurrencia de los ciclos en un hemisferio respecto del otro fue más variable.

Para discriminar entre estas dos posibilidades se realizó un análisis de correlación de eventos entre los ciclos de alta frecuencia entre hemisferios. En la figura 4-24B se representa el resultado del análisis de autocorrelación de eventos para los ciclos de alta frecuencia en el hemisferio izquierdo (en rojo) y el de la correlación cruzada entre los del hemisferio derecho respecto de los del izquierdo (azul). Como se puede observar en el diagrama de ráster (arriba) y en el histograma de frecuencias (abajo), la variabilidad en la ocurrencia de los ciclos respecto de un mismo hemisferio fue menor (trazos en rojo, hemisferio izquierdo) que la variabilidad en la ocurrencia de los ciclos de un hemisferio respecto del otro (trazos azules, hemisferio derecho respecto del izquierdo). De este análisis se concluye, pues, que el descenso de amplitud en un hemisferio respecto del otro, se debió a una relación de fase más difusa y no necesariamente a una diferencia de magnitud. Esta relación difusa entre los eventos de los dos hemisferios explica, además, por qué la coherencia espectral fue tan baja.

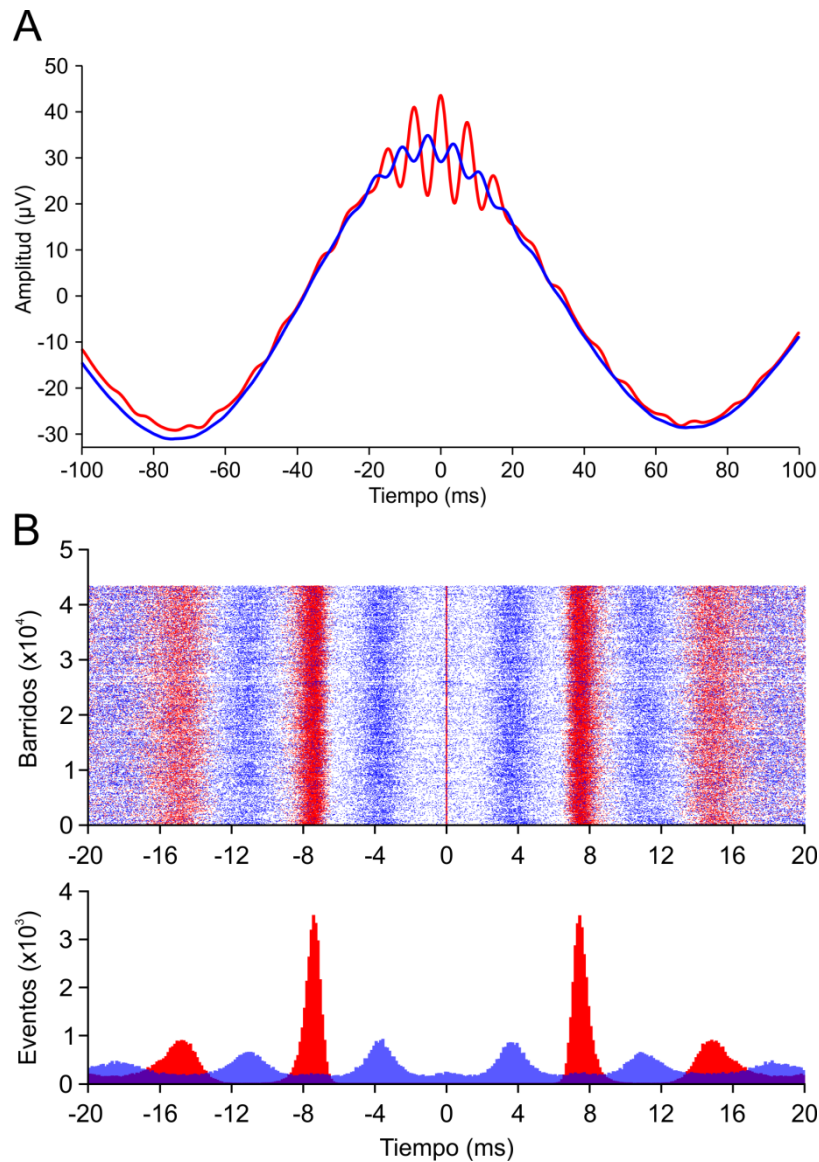


Figura 4-24. Relación entre hemisferios de las oscilaciones de alta frecuencia.

A. Resultado de promediar la actividad original en un canal del hemisferio izquierdo (trazo rojo) y en una localización equivalente en el hemisferio derecho (trazo azul), empleando como referencia, en ambos casos, los picos de alta frecuencia del canal izquierdo. Nótese la menor amplitud e inversión de fase de los ciclos de alta frecuencia en el canal derecho, respecto del izquierdo, y la equivalencia en amplitud y fase de la onda theta sobre la que se reconstruyen los ciclos de alta frecuencia. B. Ráster (arriba) e histogramas de distribución (abajo), de los picos de la actividad de alta frecuencia, empleando el mismo código de color y referencia que en A. Nótese la inversión de fase entre los picos y la mayor dispersión de los datos del hemisferio derecho.

De ser cierto esto, dada la alta sincronía dentro de un mismo hemisferio, la dispersión de fases debería ser mayor entre hemisferios que dentro de un mismo hemisferio. La figura 4-25 muestra un ejemplo representativo de las diferencias en la relación de fase existentes para las oscilaciones de alta frecuencia entre un electrodo de referencia (posición I2) y un electrodo del mismo (posición I4), o del otro (posición D4) hemisferio. Como se puede observar en la figura, los eventos de los ciclos de alta frecuencia que se registraron en el electrodo

homolateral presentaron una distribución alrededor de 0°, en la que el 75% de las observaciones se localizaron en un intervalo de 35,6° (líneas discontinuas). Sin embargo, la actividad de alta frecuencia en el electrodo contralateral presentó un perfil centrado en 180° que fue mucho más desorganizado y con el 75% de los valores contenidos en un intervalo de 160,6° (líneas discontinuas).

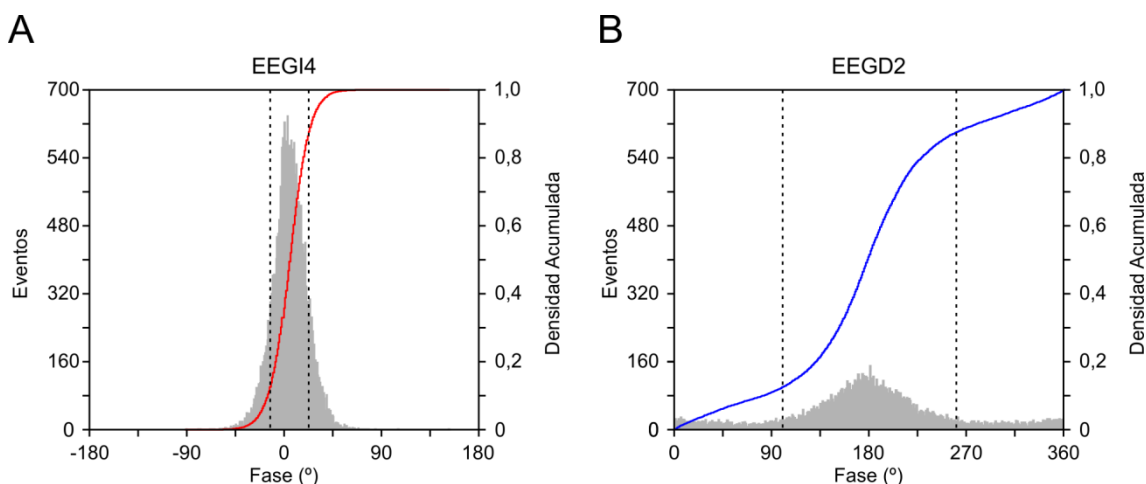


Figura 4-25. Dispersión de la fase de las actividades de alta frecuencia entre electrodos homo- y contralaterales respecto de un mismo electrodo de referencia.

A. Histograma de la distribución de los picos de alta frecuencia en el electrodo 4 del hemisferio izquierdo (área sombreada) y su distribución acumulada (trazo rojo), empleando como referencia el electrodo 2 del mismo hemisferio. Las barras discontinuas delimitan el intervalo correspondiente al 75% de las observaciones. B. Histograma de distribución de los picos de alta frecuencia en el electrodo 2 del hemisferio derecho (área sombreada) y distribución acumulada (trazo azul), empleando como referencia el electrodo 2 del hemisferio izquierdo. Las barras discontinuas delimitan el intervalo correspondiente al 75% de las observaciones. Nótese la inversión de fase en el eje de abscisas entre A y B, y la mayor dispersión de los datos para el electrodo contralateral a la referencia.

4.3.3.7 Origen de la actividad de alta frecuencia

La amplia distribución de la actividad de alta frecuencia sobre el cráneo y su dependencia casi exclusiva de la fase REM del sueño, moduló el abordaje que se fue realizando para ubicar su origen. Se prepararon animales para el registro de las distintas estructuras en las que previamente se habían identificado oscilaciones de alta frecuencia y que estuvieron relacionadas con la actividad durante el sueño REM. Los electrodos de registro que se utilizaron, permitieron lesionar, posteriormente, la estructura diana en cada animal y realizar el estudio tras la lesión. Concretamente se realizaron experimentos en el hipocampo, la amígdala central, el núcleo basal del lecho de la estría terminal y el núcleo parafascicular talámico.

4.3.3.7.1 Hipocampo

El hipocampo se consideró el primer candidato porque en esta estructura estaba bien descrita la existencia de oscilaciones de alta frecuencia moduladas por la fase de la actividad theta y porque su ubicación, respecto de la corteza, podía implicar que la alta frecuencia que se estaba registrando a nivel de la corteza, fuera una actividad del hipocampo registrada por conducción de volumen. Se prepararon seis ratas para el registro simultáneo del EEG y del hipocampo.

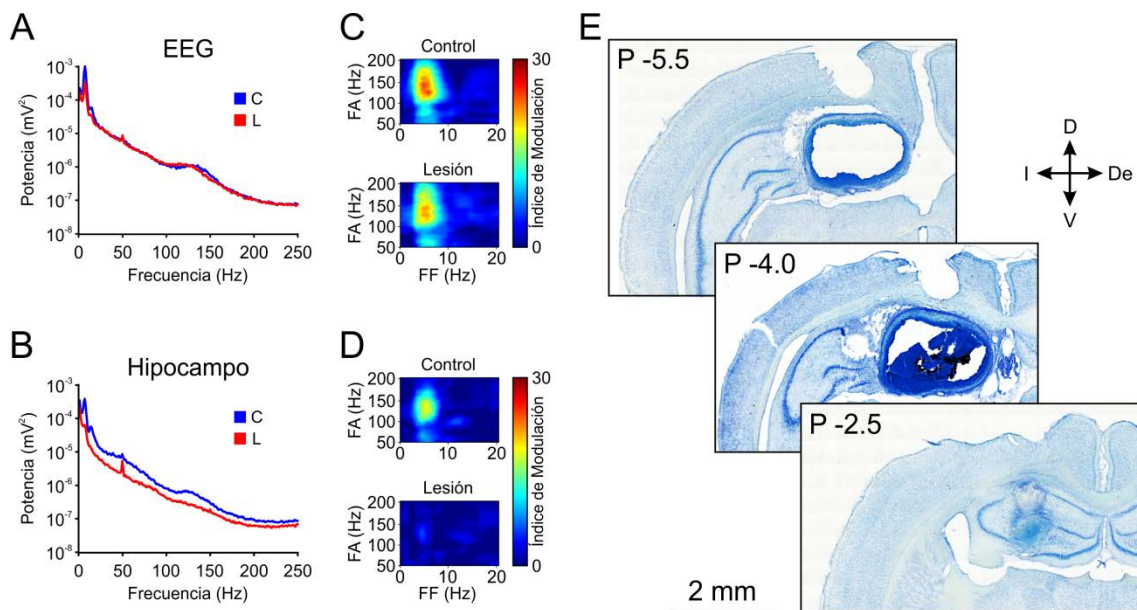


Figura 4-26. Efectos de la lesión electrolítica del hipocampo dorsal.

En A y B se muestran las variaciones de potencia espectral de las actividades que se registraron en la corteza y en el hipocampo, respectivamente, en un animal representativo. La actividad en la situación control se representa con trazos azules y tras la lesión electrolítica con trazos rojos. En C y D se muestran los comodulogramas de las actividades que se registraron en la corteza y en el hipocampo, respectivamente, antes (parte superior) y después (parte inferior) de la lesión. En E se muestra, en tres secciones coronales de hipocampo, la extensión de la lesión electrolítica en el mismo animal. C: control, D: dorsal, De: derecha, I: izquierda, L: lesión y V: ventral.

En la figura 4-26 se muestran los resultados que se obtuvieron en un animal representativo. La potencia espectral del registro del hipocampo y del EEG fueron similares y ambos presentaron una actividad en el rango de la alta frecuencia durante el sueño REM en los animales control (trazos azules en la figura 4-26A y B) y en ambos casos esta actividad mostró comodulación con la actividad theta (figura 4-26C y D). Tras la lesión unilateral del hipocampo (figura 4-26E), la actividad cortical sólo se modificó en la región de baja frecuencia (trazo rojo en la figura 4-26A). Así, la potencia espectral en la corteza, hasta los 250 Hz, fue del $110,55 \pm 12,11\%$ ($n=4$) de la potencia presente durante el periodo control. Los valores de potencia en la

corteza descendieron hasta el $58,04 \pm 30,75\%$ para la banda theta y se mantuvieron en el $97,89 \pm 7,67\%$ para la banda de alta frecuencia ($n=4$). Por el contrario, todo el espectro se vio afectado a nivel del hipocampo (trazo rojo en la figura 4-26B). Los valores de potencia en el hipocampo hasta los 250 Hz descendieron hasta un $52,45 \pm 11,24\%$ ($n=4$) de los valores presentes durante el periodo control. Específicamente, la potencia descendió hasta el $19,44 \pm 16,90\%$ para la banda theta y hasta el $50,76 \pm 3,15\%$ para la banda de alta frecuencia ($n=4$) tras la lesión del hipocampo. De manera similar, la lesión del hipocampo no modificó a nivel cortical la comodulación entre la alta frecuencia y theta (figura 4-26C) pero hizo desaparecer la relación a nivel del hipocampo (figura 4-26D). Cabe destacar que en dos de los animales en los que la lesión excedió los límites del hipocampo y afectó a la corteza, se observaron modificaciones en la actividad de alta frecuencia cortical.

Así pues, en conjunto, estos resultados sugieren la existencia de un generador cortical de alta frecuencia, independiente del hipocampo.

4.3.3.7.2 Amígdala Central

Recientemente, se había descrito la existencia de oscilaciones de alta frecuencia en el rango de 110 a 160 Hz, que ocurría en brotes que mostraban una alta coherencia entre localizaciones lejanas. La potencia de esta banda también era dependiente del estado de alerta del animal, y se había mostrado que era máxima durante la vigilia tranquila y el sueño REM. Para estudiar esta estructura se prepararon tres animales con electrodos de EEG y electrodos bipolares a nivel de la amígdala central.

Las oscilaciones de alta frecuencia en la amígdala estuvieron presentes durante todo el registro, aunque su potencia varió dependiendo del estado alerta del animal. Concretamente, a nivel de la amígdala, la potencia espectral en la banda de alta frecuencia fue mayor durante la vigilia. Los valores de potencia en esta banda durante sueño REM y sueño NREM, respecto de la vigilia, fueron del $65,81 \pm 19,90\%$ y del $37,58 \pm 11,62\%$, respectivamente.

Durante el sueño REM, la potencia de la banda theta y de alta frecuencia fue inferior a nivel de la amígdala (figura 4-27A) respecto de la corteza (figura 4-27C). Concretamente, los valores de potencia en la corteza en las bandas theta y de alta frecuencia fueron $4,0 \pm 0,3$ y $1,4 \pm 0,1$ veces los alcanzados en la amígdala, respectivamente. A diferencia de la corteza (figura 4-27D), la actividad de alta frecuencia en la amígdala (figura 4-27B) no presentó comodulación con la actividad theta.

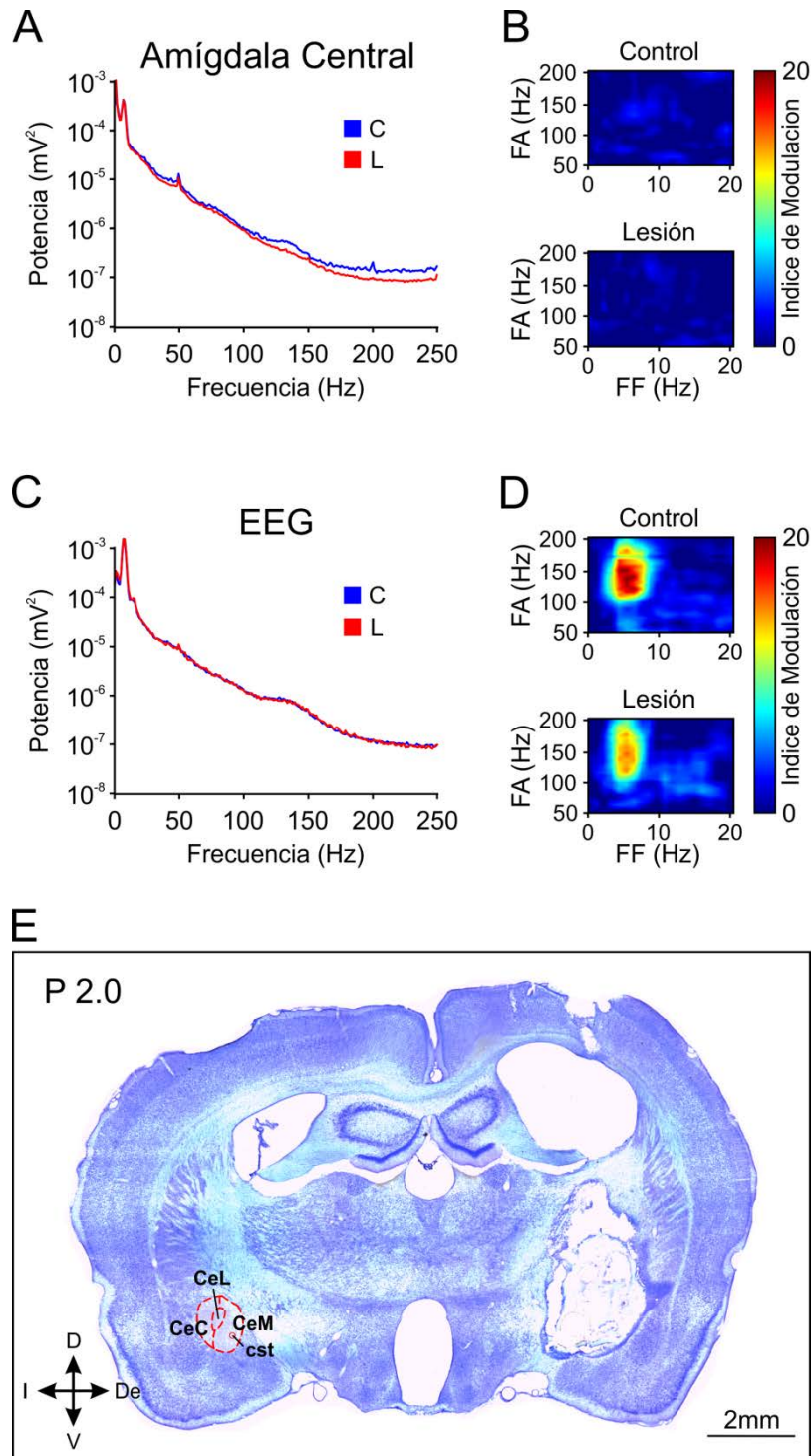


Figura 4-27. Efecto de la lesión electrolítica de la amígdala central.

En A y C se muestran las variaciones de potencia espectral de las actividades que se registraron en la amígdala central y en la corteza, respectivamente, en un animal representativo. La actividad control se representa con trazos azules y tras la lesión electrolítica en rojo. En B y D se muestran los comodulogramas de las actividades que se registraron en la amígdala central y en la corteza, respectivamente, antes (parte superior) y después (parte inferior) de la lesión. En E se muestra, en una sección coronal, la extensión de la lesión electrolítica en el mismo animal. C: control, CeC: núcleo capsular de la amígdala central, CeL: división lateral de la amígdala central, CeM: división medial de la amígdala central, cst: comisura de la estria terminal, D: dorsal, De: derecha, FA: frecuencia de la amplitud, FF: frecuencia de la fase, I: izquierda, L: lesión, y V: ventral.

Tras la lesión electrolítica de la amígdala (figura 4-27E), la potencia espectral en la amígdala sufrió un descenso para frecuencias superiores a los 15 Hz, que se hizo más acusado para frecuencias más altas. Este descenso incluyó la desaparición de la banda en el rango de las altas frecuencias (figura 4-27A). Los valores promedio de potencia espectral tras la lesión descendieron en la amígdala hasta el $75,39 \pm 10,57\%$ de los valores promedio que se registraron durante el periodo control. En la banda de alta frecuencia, el valor promedio de potencia espectral fue del $73,85 \pm 6,51\%$ respecto del control. Respecto de la actividad cortical, la lesión de la amígdala no produjo cambios en ninguna frecuencia (figura 4-27C), incluyendo la banda de alta frecuencia, ni en la comodulación de ésta con la actividad theta (figura 4-27D).

La persistencia de la actividad de alta frecuencia cortical tras la destrucción de la amígdala central, junto con la presencia de oscilaciones de alta frecuencia en la amígdala, sin especificidad de estado ni modulación dependiente del ritmo theta, sugieren que el generador de alta frecuencia a nivel cortical es independiente de la actividad de la amígdala central.

4.3.3.7.3 Núcleo Basal del Lecho de la Estría Terminal

Se había descrito previamente la existencia de oscilaciones de alta frecuencia en el núcleo del lecho de la estría terminal, que mostraban una coherencia elevada entre localizaciones diferentes y una potencia relacionada con los diferentes estados de alerta del animal. Se prepararon cuatro animales a los que se implantaron electrodos para el registro de la actividad EEG y electrodos bipolares para el registro y lesión del núcleo del lecho de la estría terminal.

La actividad en núcleo basal del lecho de la estría terminal mostró la presencia de un incremento de la potencia espectral en el rango de las altas frecuencias (figura 4-28A), aunque de menor potencia respecto de la que se registró a nivel de la corteza (figura 4-28C). Esta actividad no fue específica de la fase REM del sueño y no presentó comodulación con ninguna frecuencia (figura 4-28B) a diferencia de la corteza (figura 4-28D).

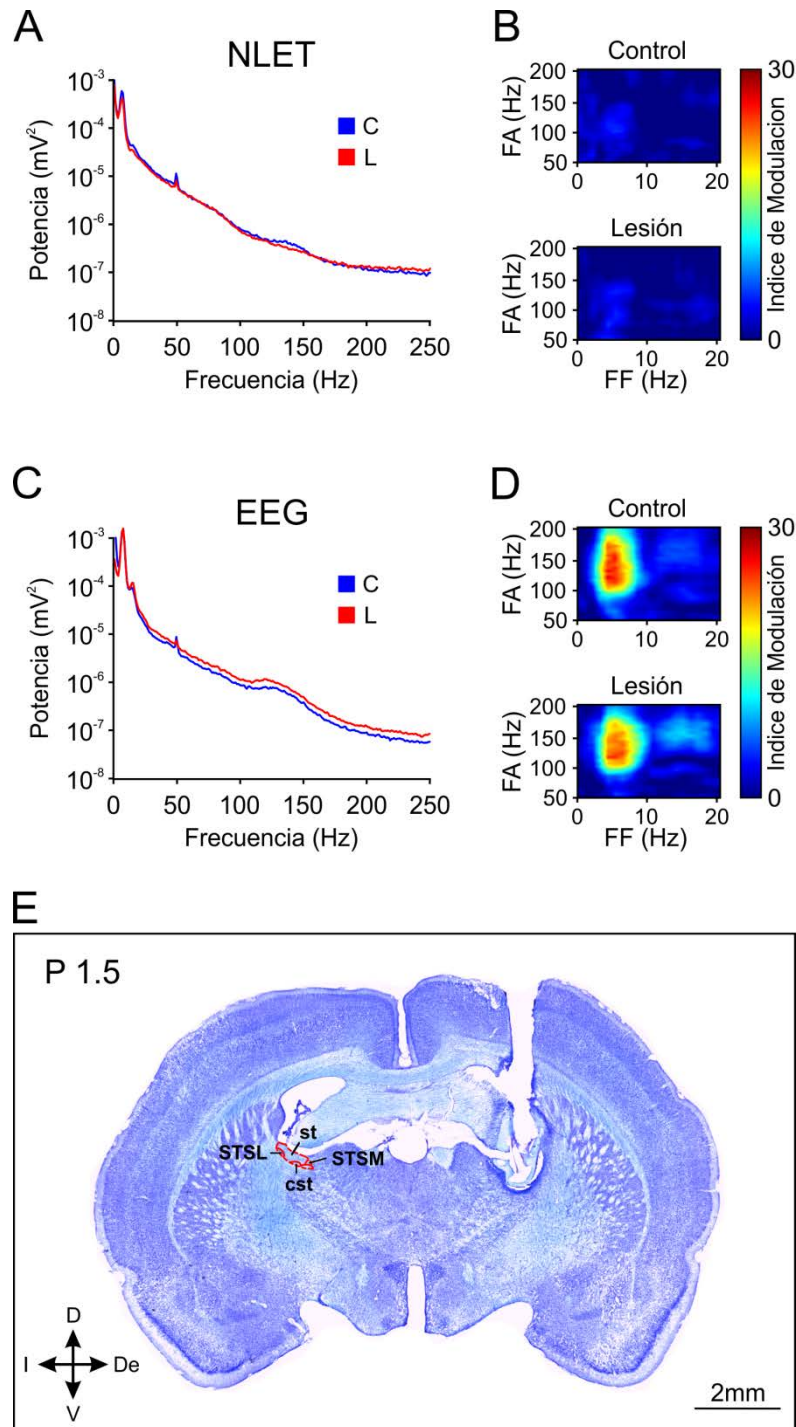


Figura 4-28. Efecto de la lesión electrolítica del núcleo del lecho de la estría terminal.

En A y C se muestran las variaciones de potencia espectral de las actividades que se registraron en el núcleo del lecho de la estría terminal y en la corteza, respectivamente, en un animal representativo. La actividad en la situación control se representa con trazos azules y tras la lesión electrolítica con trazos rojos. En B y D se muestran los comodulogramas de las actividades que se registraron en el núcleo del lecho de la estría terminal y en la corteza, respectivamente, antes (parte superior) y después (parte inferior) de la lesión. En E se muestra, en una sección coronal, la extensión de la lesión electrolítica en el mismo animal. C: control, cst: comisura de la estría terminal, D: dorsal, De: derecha, FA: frecuencia de la amplitud, FF: frecuencia de la fase, I: izquierda, L: lesión, NLET: núcleo del lecho de la estría terminal, st: estría terminal, STSL: división lateral del núcleo del lecho de la estría terminal, STSM: división medial del núcleo del lecho de la estría terminal, y V: ventral.

La lesión del núcleo del lecho (figura 4-28E), provocó una caída de la potencia espectral en la banda de 110 a 160 Hz del $86,90 \pm 7,28\%$ respecto de los valores que se registraron durante la sesión control (figura 4-28A). En la corteza (figura 4-28C), la lesión del núcleo basal del lecho de la estría terminal provocó un aumento generalizado de la potencia espectral, de modo que tras la lesión fue un $122,24 \pm 9,78\%$ de la potencia que se registró durante el periodo control. El incremento en la banda de alta frecuencia fue del $120,76 \pm 5,74\%$ con respecto al valor antes de la lesión. A pesar de este incremento de potencia, el nivel de comodulación entre las altas frecuencias y theta permaneció invariable a nivel cortical (figura 4-28D).

Estos resultados sugieren que la actividad de alta frecuencia cortical está sometida a una regulación diferente a la de la actividad de alta frecuencia del núcleo del lecho y, por tanto, que el generador cortical es independiente del núcleo del lecho de la estría terminal.

4.3.3.7.4 Núcleo Parafascicular Talámico

Dado que el núcleo parafascicular talámico forma parte del sistema tálamo-cortical inespecífico que media entre el sistema reticular ascendente y la corteza, y entre sus proyecciones se localizan la corteza somato-sensorial y motora, se estudió la relación de este núcleo con la actividad de alta frecuencia cortical. Para estudiar la relación del núcleo parafascicular talámico con la actividad de alta frecuencia cortical, se prepararon cuatro animales a los que se implantaron electrodos para el registro de la actividad EEG y electrodos bipolares para el registro y lesión del núcleo parafascicular talámico.

Como se muestra en la figura 4-29A, el registro control de la señal a nivel de núcleo parafascicular talámico, mostró una mayor potencia espectral en una banda en torno a los 80Hz que fue específica de la fase REM (trazo azul). El análisis de comodulación mostró la existencia de una relación entre la amplitud de la banda entre 60 y 90 Hz y la fase de theta (figura 4-29B). Estos valores de comodulación fueron significativos, aunque inferiores a los de la actividad de alta frecuencia en la corteza (figura 4-29D).

Las lesiones electrolíticas a nivel del núcleo parafascicular talámico (figura 4-29E) produjeron un descenso generalizado de la potencia espectral en la banda hasta los 250Hz del $56,36 \pm 9,02\%$ (figura 4-29A). El descenso en la banda en torno a los 80Hz fue del $57,35 \pm 12,55\%$. Como se puede observar en la figura 4-29B, la comodulación de la actividad desapareció tras la lesión. La actividad cortical, por el contrario, no se vio afectada de manera

significativa tras la lesión del núcleo parafascicular talámico (figura 4-29C). Tras la lesión, los valores de potencia espectral en la banda de 110 a 160 Hz fueron del $86,71 \pm 6,73\%$, respecto de los alcanzados durante el periodo control, en el mismo rango que el resto de la banda hasta los 250 Hz ($91,80 \pm 4,44\%$). Como se representa en la figura 4-29D, la relación de fase entre la alta frecuencia y theta a nivel de la corteza tampoco se vio afectada tras la lesión del núcleo parafascicular talámico.

En conjunto, estos resultados sugieren que la actividad de alta frecuencia cortical es independiente de la integridad y funcionamiento del núcleo parafascicular talámico.

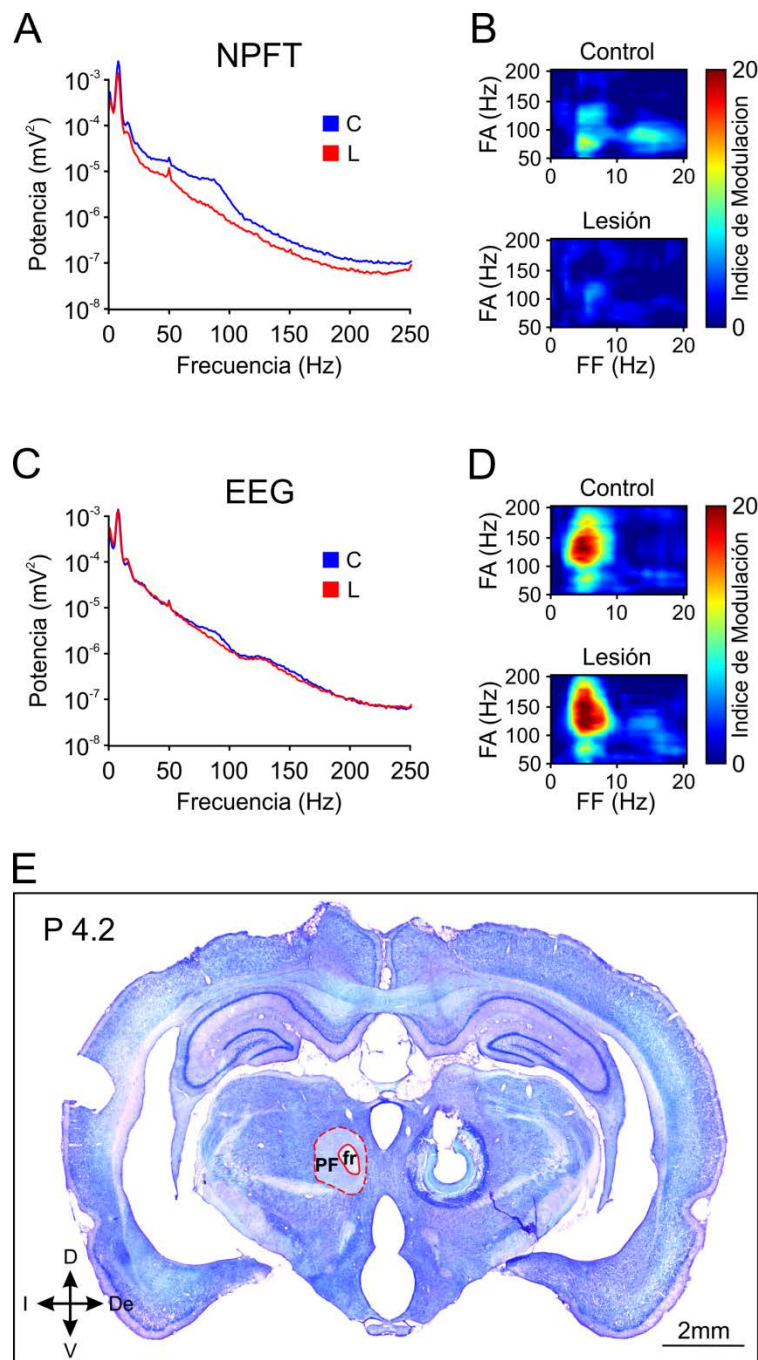


Figura 4-29. Efecto de la lesión electrolítica del núcleo parafascicular talámico.

En A y C se muestran las variaciones de potencia espectral de las actividades que se registraron en el núcleo parafascicular talámico y en la corteza, respectivamente, en un animal representativo. La actividad en la situación control se representa con trazos azules y, tras la lesión electrolítica, con trazos rojos. En B y D se muestran los comodulogramas de las actividades que se registraron en el núcleo parafascicular talámico y en la corteza, respectivamente, antes (parte superior) y después (parte inferior) de la lesión. En E se muestra, en una sección coronal, la extensión de la lesión electrolítica en el mismo animal. C: control, D: dorsal, De: derecha, FA: frecuencia de la amplitud, FF: frecuencia de la fase, fr: fascículo retroflexo, I: izquierda, L: lesión, PF: núcleo parafascicular talámico, y V: ventral.

4.3.3.7.5 Organización interhemisférica de las oscilaciones de alta frecuencia: papel funcional del cuerpo calloso

La oposición de fase entre hemisferios que mostró la actividad de alta frecuencia, sugirió que la conexión entre hemisferios podría estar participando activamente en la generación y/o mantenimiento de dicha actividad cortical. Dado que la vía de comunicación principal y más rápida entre la corteza en ambos hemisferios es el cuerpo calloso, se prepararon tres animales a los que se realizó una callosotomía y se registró su actividad EEG durante sueño REM. En la figura 4-30D, se muestra un esquema de la sección sagital en la línea media del cerebro de la rata. Sobre el esquema se indica la extensión y profundidad del corte realizado (línea discontinua), así como la localización de las tres reconstrucciones coronales pertenecientes a un animal representativo, mostradas debajo. Como se puede observar, el cuerpo calloso fue completamente seccionado en toda la extensión del corte.

Los tres animales mostraron las actividades características del ciclo de vigilia-sueño. Como se muestra en el episodio representativo de la figura 4-31A, durante el sueño REM, estos animales mostraron pérdida de tono y fasciculaciones en la musculatura del cuello, cambios característicos en la posición tónica de los ojos y movimientos oculares rápidos, y un ritmo theta de gran amplitud, característico de esta fase. No obstante, en ninguno de los episodios REM se observó el incremento de potencia espectral en el rango de las altas frecuencias (figura 4-31B). La figura 4-30A muestra el promedio y las desviaciones de la ratio de la potencia espectral durante sueño REM respecto de la de NREM en los tres animales tras la callosotomía (trazo rojo) y en 5 animales control (trazo azul). Como se puede observar, hasta aproximadamente 60 Hz la relación de la potencia espectral en los animales callosotomizados fue muy similar a la que mostraron los animales control. A partir de 60 Hz el incremento en potencia espectral característico de la fase REM estuvo ausente y fue diferente de la de los animales control ($P < 0,05$; barras negras en la figura 4-30A).

Como se puede observar en la figura 4-30B, el promedio de la actividad en la banda de 110 a 160 Hz en el hemisferio contralateral (trazo azul) al hemisferio de referencia (trazo rojo), en los animales callosotomizados, reveló la pérdida de la oposición de fase interhemisférica característica de la actividad de alta frecuencia. Así mismo, la desaparición de la actividad theta en el promedio de la actividad de alta frecuencia, sugirió la pérdida de la relación de fase entre la alta frecuencia y theta, lo que se confirmó mediante el análisis de comodulación (inserto en figura 4-30B). En la figura 4-30C, se muestra el análisis de correlación de eventos para los picos de alta frecuencia que se emplearon en el promedio de la figura 4-30B. Este análisis confirmó la pérdida de la inversión de fase interhemisférica en los animales

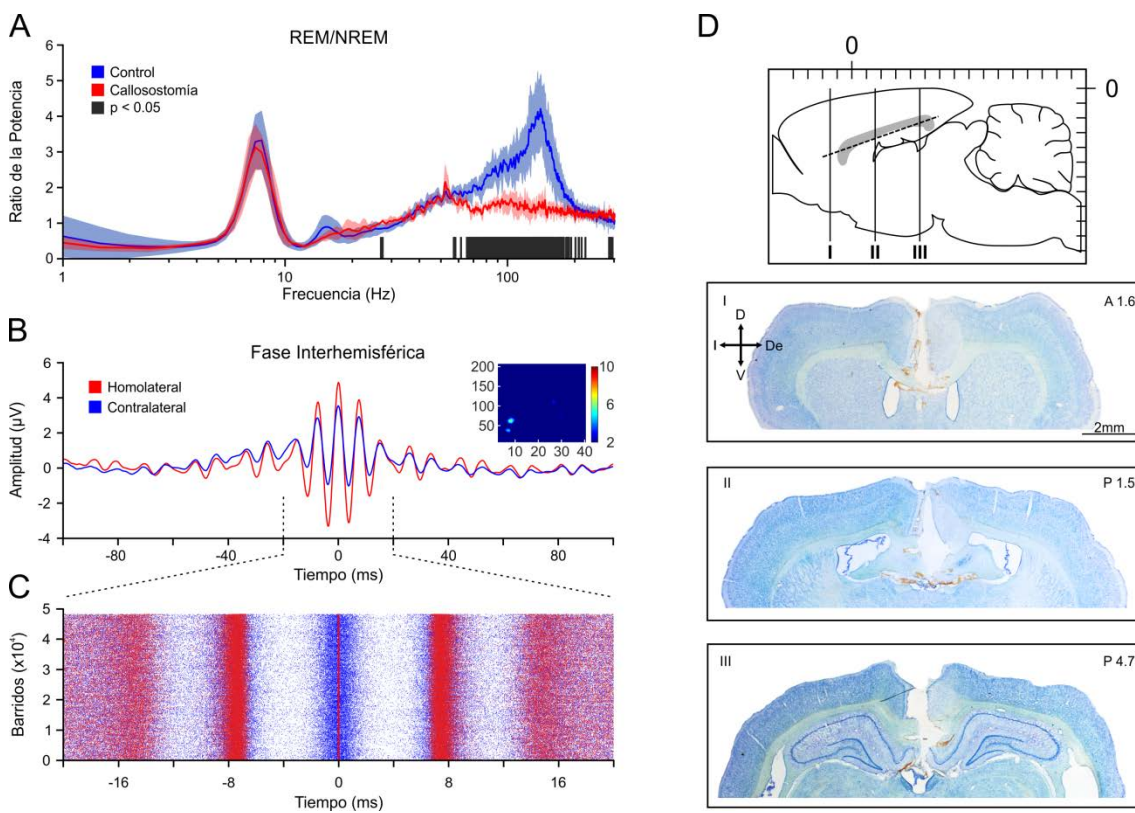


Figura 4-30. Efecto de la callosotomía sobre la organización de las altas frecuencias.

A. Media y desviación estándar de la potencia espectral durante la fase REM, relativizada a la fase NREM, en el rango de frecuencias entre 1 y 300 Hz, para animales control (trazo y área sombreada azul, respectivamente) frente a animales callosotomizados (trazo y área sombreada en rojo, respectivamente). Las barras negras en el eje de abscisas identifican las frecuencias con diferencias significativas ($P < 0,05$). B. Resultado de promediar la actividad bruta, en un electrodo del hemisferio izquierdo, en un animal callosomizado (rojo) y en la localización equivalente del hemisferio derecho (azul), empleando como referencia, en ambos casos, los picos de alta frecuencia del canal izquierdo. Nótese la pérdida de la inversión de fase entre hemisferios y la disminución de la relación de potencia-fase entre la alta frecuencia y theta (comodulograma inserto en B) respecto de los animales control (figuras 4-14 y 4-24). C. Ráster de los picos de la actividad de alta frecuencia, empleando el mismo código de color y referencia que en A. D. Representación esquemática de la vista sagital del cerebro de la rata a nivel de la línea media (arriba), en que se han representado la extensión y profundidad la sección del cuerpo calloso (línea discontinua) y la localización de los tres cortes coronales (I, II y III) que se indican en la parte inferior de la figura.

callosotomizados y, a diferencia de lo anteriormente descrito para la situación control (figura 4-24B), mostró una dispersión de datos superpuesta para el autocorrelograma y la correlación cruzada con el hemisferio contralateral.

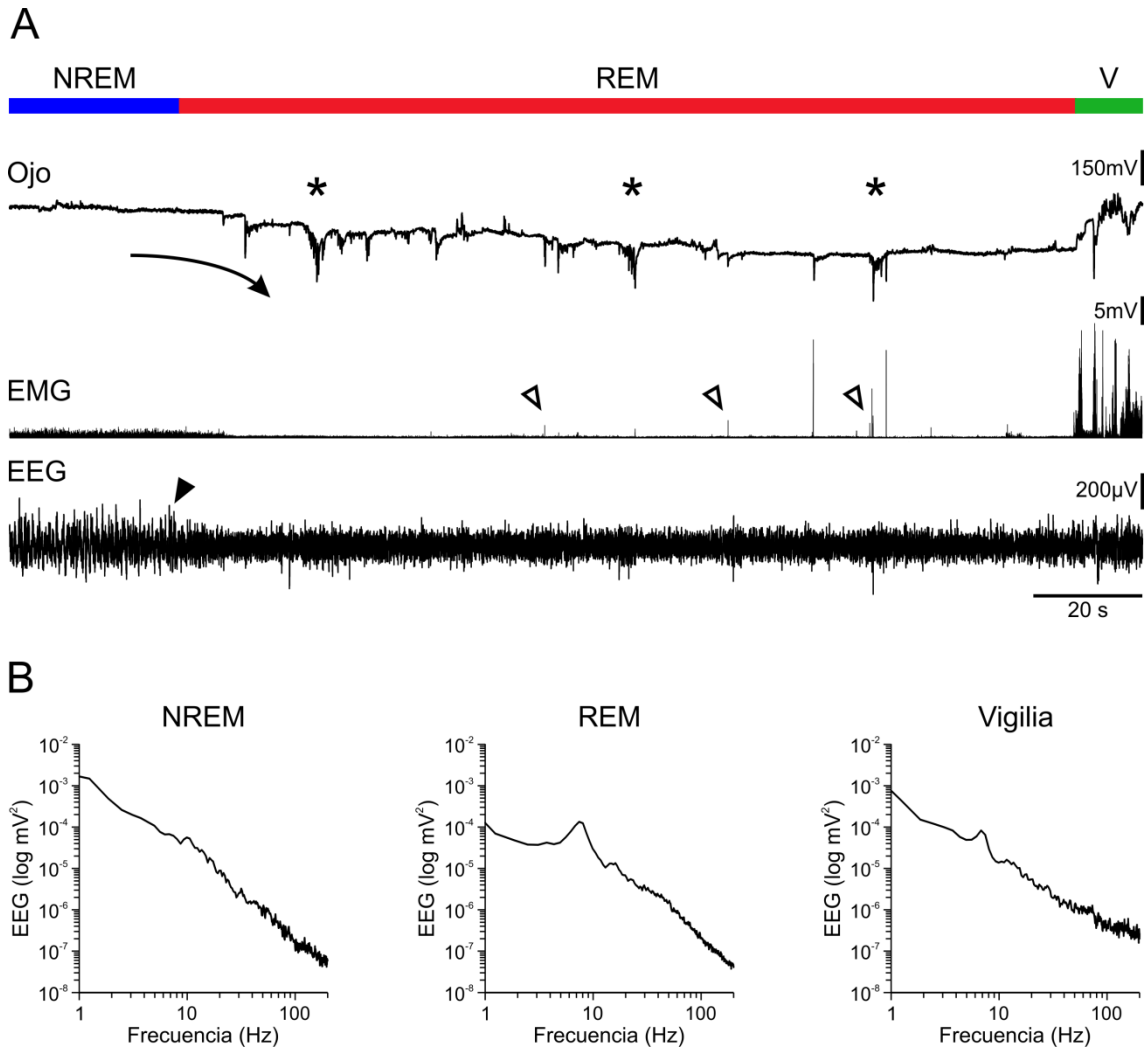


Figura 4-31. Efecto de la callosotomía sobre el ciclo vigilia-sueño.

A. De arriba abajo se muestra una barra en la que se identifican los periodos de NREM, REM y vigilia (V), los movimientos oculares (Ojo), la actividad del músculo acromiotrapezio (EMG) y la actividad electroencefalográfica (EEG), en un animal callosotomizado. Los movimientos oculares, durante la fase REM, fueron similares a los de los animales control y mostraron el componente tónico (flecha curva) y brotes de movimientos oculares rápidos (asteriscos). La actividad muscular mostró una pérdida de tono al inicio de REM y fasciculaciones características (cabezas de flecha blancas). La actividad EEG mostró un patrón de baja frecuencia y gran amplitud durante NREM. La cabeza de flecha negra identifica un huso característico del final de la fase NREM. B. Espectrogramas de la actividad EEG durante NREM, REM y vigilia. El espectro de potencia durante NREM (izquierda) se caracterizó por la mayor potencia de las bajas frecuencia y de los husos. Durante la fase REM (centro) se produjo un incremento de potencia en la banda theta, pero la banda correspondiente a la actividad de alta frecuencia estuvo ausente. Durante la vigilia (derecha) también se produjo una actividad theta, que fue menor que durante la fase REM, y un incremento en el extremo de las altas frecuencias, debido a la actividad muscular.

Desde el punto de vista de las actividades de los electrodos del mismo hemisferio, la callosotomía no indujo cambios en la coherencia espectral entre los electrodos. En la figura 4-32A, se muestra la coherencia media en el espectro de 1 a 300 Hz entre parejas de electrodos correspondientes al mismo hemisferio en animales callosotomizados (trazo rojo), y en animales control (trazo azul). Los valores de coherencia media en las bandas theta y de alta frecuencia fueron de $0,96 \pm 0,02$ y $0,68 \pm 0,09$, respectivamente (figura 4-32B barras rojas). Estos resultados no difirieron significativamente de los que se obtuvieron en los animales control, con valores de $0,97 \pm 0,02$ y $0,75 \pm 0,09$ para theta y alta frecuencia, respectivamente (figura 4-32B, barras azules).

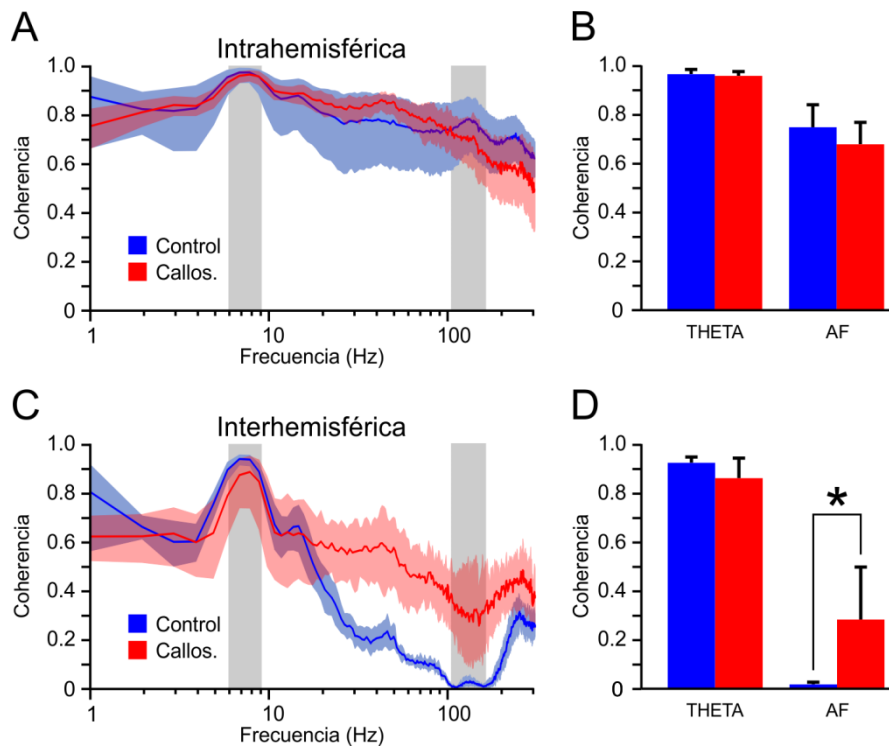


Figura 4-32. Efecto de la callosotomía sobre las coherencias intra- e interhemisféricas.

En A se muestran los valores promedio (trazo) y las desviaciones estándar (área sombreada en color) de las coherencias espectrales intrahemisféricas en el intervalo de frecuencias entre 1 y 300 Hz, en los animales callosotomizados (en rojo) y en los animales control (en azul). En los diagramas de barras en B se muestran los valores medios de coherencia en las bandas de theta y de alta frecuencia (AF), siguiendo el mismo código de colores que en A. En C y D se muestra lo mismo que en A y B, pero para las coherencias entre hemisferios. El asterisco marca la existencia de diferencias significativas ($P < 0,001$).

Por el contrario, la callosotomía modificó drásticamente la coherencia entre electrodos de los dos hemisferios. En la figura 4-32C, se muestra el análisis de coherencia para parejas de electrodos de los dos hemisferios en animales callosotomizados (trazo rojo), y en animales

control (trazo azul). Como se puede observar, no hubo cambios en la coherencia entre electrodos por debajo de los 15 Hz y, específicamente, la banda theta, alcanzó un valor de coherencia promedio de $0,86 \pm 0,08$, que no difirió del valor de $0,93 \pm 0,02$ que se obtuvo en los animales control (figura 4-32D). Sin embargo, en la banda entre 15 y 200 Hz los valores de coherencia en los animales callosotomizados se mantuvieron siempre por encima de los valores en los animales control. En la banda de alta frecuencia, los animales callosotomizados mostraron un valor promedio de coherencia de $0,28 \pm 0,22$, que fue significativamente mayor que el valor de $0,02 \pm 0,01$ de los animales control (t-Student $T=7,18$; $P<0,001$) (figura 4-32D).

Como control a los animales callosotomizados, se prepararon animales en los que la cuchilla se situó en los mismos niveles antero-posteriores y mediales que en los animales callosotomizados, pero no alcanzó el cuerpo calloso o lo seccionó parcialmente. En estos animales se observó que la lesión a nivel de la corteza cingulada resultó insuficiente para producir los efectos anteriormente descritos. En aquellos animales en que se seccionó el cuerpo calloso parcialmente, se obtuvieron resultados parciales, en los que el descenso de la potencia espectral y los cambios de coherencia no fueron tan acusados.

5 DISCUSIÓN

5 DISCUSIÓN

En el presente trabajo se han estudiado en detalle las características tónicas y fásicas que ocurren en el sistema oculomotor y en la actividad EEG, durante la fase REM del sueño, en la rata. A nivel oculomotor, la actividad extraocular durante el sueño, se caracterizó por la existencia de cambios progresivos en la relajación de la musculatura durante la fase NREM, que se convirtieron en cambios mantenidos de la posición de los ojos, en adducción e infraducción, durante la fase REM. Estas tendencias tónicas, durante la fase REM, se vieron interrumpidas por brotes de movimientos oculares rápidos y complejos. Estos componentes fásicos, siguieron pautas muy concretas en su ejecución y fueron específicos de la fase REM del sueño.

La actividad EEG también se caracterizó por la presencia de una actividad tónica consistente en la oscilación theta, de gran potencia, que se instauró durante la transición, entre la fase NREM y REM, y se mantuvo con gran amplitud durante toda la fase REM. Al mismo tiempo, y con los ciclos de theta, se produjo una actividad fásica que estuvo representada por brotes de actividad en la banda de 110-160 Hz, que se han denominado brotes de alta frecuencia. Esta actividad fásica mostró una distribución cortical muy amplia, una coherencia espectral muy alta dentro de un mismo hemisferio y muy baja entre hemisferios, y, en base al análisis de desfase de las oscilaciones, apareció primeramente a niveles rostrales y, progresivamente más tarde, en regiones corticales posteriores. Esta topografía de activación de la actividad de alta frecuencia, a pesar de estar organizada temporalmente por la actividad de theta, no coincidió con la que mostró la oscilación en theta.

Aunque el origen de esta oscilación de alta frecuencia es desconocido, en la presente Tesis se muestran pruebas de su dependencia de la integridad del cuerpo calloso. También se muestra que esta actividad cortical no se vio alterada por lesiones en estructuras que se sabe que, o bien, muestran actividades en esta misma banda y están organizadas en fase con theta, como el hipocampo, o bien, son estructuras que controlan la actividad cortical como la amígdala central, el núcleo del lecho de la estría terminal y el núcleo parafascicular talámico.

5.1 Fenómenos tónicos y fásicos en el sistema oculomotor durante el sueño

Tras los trabajos clásicos de Aserinsky y Kleitman (1953, 1955), en los que se describió la existencia de una fase del sueño en la que ocurrían brotes de movimientos oculares rápidos, la detección de estos movimientos cobró una especial relevancia como característica

polisomnográfica. El descubrimiento posterior de la existencia de componentes fásicos y tónicos en estos movimientos durante el sueño, ha resaltado, aún más, el papel de los movimientos oculares como una herramienta precisa para la discriminación de estados (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008). El que la actividad del sistema oculomotor esté modulada por los estados de alerta no resulta sorprendente, ya que su actividad es el resultado de la integración de múltiples entradas, procedentes de numerosas poblaciones de neuronas repartidas por muchas estructuras cerebrales. Específicamente, la actividad del sistema oculomotor es el resultado de procesamientos en el tronco del encéfalo, el tubérculo cuadrigémino superior, los ganglios basales, el tálamo, el cerebelo y la corteza cerebral, como estructuras más relevantes (Wurtz y Goldberg, 1989; Büttner-Ennever, 2005; Horn y Leigh, 2011). Así pues, cualquier cambio de actividad en estas estructuras durante el ciclo vigilia-sueño se verá reflejado en las características de los movimientos oculares.

La prominencia que tienen los fenómenos tónicos y fásicos en el sistema oculomotor durante la fase REM del sueño, contrasta con la atención desigual que, históricamente, han recibido en la literatura. Así, mientras existen numerosos trabajos en los que se han caracterizado las actividades fásicas (Fuchs y Ron, 1968; Herman y col., 1983; Nelson y col., 1983; Aserinsky y col., 1985; Vanni-Mercier y col., 1994; Zhou y King, 1997; Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), solo hay dos publicaciones en las que se han analizado los componentes tónicos que afectan a la posición y a la coordinación entre ambos ojos (Zhou y King, 1997; Márquez-Ruiz y Escudero, 2008). Esta disparidad se debe, probablemente, al uso de la EOG como técnica más habitual de registro del movimiento ocular. El registro mediante EOG, se basa en la diferencia de potencial corneo-retinal, la cual se sabe que se ve afectada por cambios de iluminación, pO_2 , pCO_2 y pH sanguíneo (Linsenmeier y col., 1983; Niemeier y Steinberg, 1984). Así, la inestabilidad del valor del dipolo córneo-retinal, hace imposible conocer con exactitud la posición de los ojos a lo largo del tiempo, lo que ha imposibilitado el estudio de los fenómenos tónicos.

No obstante, el comportamiento del sistema oculomotor durante la fase REM, sí ha sido estudiado previamente mediante la técnica del seguidor magnético de la posición ocular. Estos estudios se han realizado en primates (Fuchs y Ron, 1968), cobayas (Escudero y Vidal, 1996) y gatos (Vanni-Mercier y col., 1994, Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), si bien, hasta ahora, no se han realizado en la rata. Considerando que, en la actualidad, la mayoría de los modelos animales que se emplean en el estudio de los fenómenos que ocurren durante el sueño están basados en los roedores, la caracterización de los movimientos oculares en la rata, y lo que ellos se pueda derivar, puede ser de gran importancia. Además, la comparación de las

características de sus movimientos con los descritos en otras especies, puede constituir una excelente herramienta para estudiar el grado de conservación de los mecanismos que subyacen a la generación del sueño en la escala filogenética.

5.1.1 Actividades tónicas durante la fase NREM

Durante la fase NREM, los ojos de la rata realizaron rotaciones lentas. Este tipo de movimientos también se han descrito en humanos (Aserinsky y Kleitman, 1953, 1955), primates (Fuchs y Ron, 1968; Henn y col., 1984), gatos (Fukushima y Fukushima, 1990; Vanni-Mercier y col., 1994; Márquez-Ruiz y Escudero, 2008) y cobayas (Escudero y Vidal, 1996). En la rata, estos movimientos ocurrieron principalmente en el plano horizontal y produjeron una divergencia sostenida de los ojos durante la fase NREM respecto del periodo de vigilia.

La divergencia sostenida en el plano horizontal durante la fase NREM, implica la existencia de un nivel de actividad menor en el recto medial que en el recto lateral. Aunque no existen comparaciones previas de los niveles de disparo de las motoneuronas que inervan estos músculos, se sabe que tanto las motoneuronas que inervan al recto lateral (Delgado-García y col., 1986), como las que lo hacen sobre el recto medial (Henn y col., 1984; De La Cruz y col., 1989), muestran un descenso en la tasa de disparo con el paso de la vigilia a NREM. En el gato, se ha propuesto que esta divergencia es el resultado de la relajación del sistema oculomotor, que desactiva la co-contracción de los rectos mediales, necesaria para mantener una buena visión frontal binocular durante la vigilia (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008). El hecho de que los valores de abducción alcanzados durante NREM coincidan con los que se han comunicado en gatos criados en oscuridad (Cynader, 1979), refuerzan esta hipótesis. Dado que los resultados aquí presentados coinciden cualitativamente con los descritos en el gato, es probable que esta hipótesis se pueda extender al modelo de la rata. En este sentido, durante la estimulación optocinética en la rata, se ha demostrado que existe una convergencia durante la fase rápida del reflejo en el ojo que realiza la adducción. Esta convergencia, se corrige, posteriormente, mediante derivas lentas en abducción (De'sperati y col., 1994), lo que podría reflejar el papel de la co-contracción de los rectos mediales para mantener el grado de convergencia apropiado.

En el plano vertical, aunque se encontraron pequeñas variaciones en la posición de ambos ojos, las diferencias en la tendencia tónica de los ojos respecto de las de la vigilia no fueron significativas. Esto contrasta con las diferencias que otros autores han encontrado en

monos (Fuchs y Ron, 1968) y gatos (Bon y col., 1980; Vanni-Mercier y col., 1994; Márquez-Ruiz, 2008). Aunque el presente resultado implica un descenso simétrico, y de magnitud equivalente, en la actividad de las motoneuronas que controlan los movimientos en el plano vertical, el grado de disparidad que se encontró en este plano indica la existencia de pequeñas variaciones en el nivel de actividad de estas motoneuronas.

5.1.2 Actividades tónicas durante el periodo de transición y la fase REM

Al igual que se ha descrito en el gato (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), los ojos de la rata mostraron una convergencia y una infraducción al comienzo del periodo de transición que se hicieron máximos durante la fase REM. Pese a que se ha descrito la ausencia de tono en la musculatura extraocular durante la fase REM (Jeannerod y col., 1965; Seelke y col., 2005), el mantenimiento de la convergencia y de la infraducción durante este periodo, con valores máximos de rotación que fueron incluso mayores que los que se alcanzaron durante la vigilia, implica la existencia de mecanismos generadores de estas señales tónicas.

Para las especies con ojos laterales, la infraducción requiere de la activación del recto inferior y del oblicuo superior, así como la desactivación del recto superior y del oblicuo inferior (Simpson y Graf, 1981). El recto superior y el elevador del párpado comparten un mismo perimio (Sevel, 1986), y sus respectivas motoneuronas parecen compartir entradas premotoras (Horn y col., 2000; Chen y May, 2002, 2007; Morcuende y col., 2002). Considerando la estrecha relación que existe entre estos dos músculos, es probable que el mismo mecanismo que inhibe a las motoneuronas del elevador del párpado, permitiendo el cierre del párpado durante el sueño, inhiba a las motoneuronas del recto superior. Sin embargo, la infraducción sostenida durante la fase REM parece ser demasiado grande como para que pueda ser explicada únicamente en base a la desactivación del recto superior. Por ello, la activación tónica del recto inferior también debería ser tenida en cuenta. En esta dirección, se ha descrito la existencia de un descenso tónico de la actividad del párpado inferior durante la fase REM en el gato (Orem y Dement, 1974). Este descenso, podría ser una consecuencia mecánica de la rotación del globo ocular inducida por la activación del recto inferior. En cualquier caso, se necesitaría el registro de la actividad de las motoneuronas del núcleo oculomotor durante sueño REM para comprobar esta hipótesis.

En el plano horizontal, la convergencia tónica que se desarrolló durante la transición a sueño REM, solamente podría explicarse mediante la desactivación del recto lateral y/o la

activación del recto medial. En el gato se ha demostrado la existencia de una inhibición tónica de las motoneuronas del núcleo del motor ocular externo durante la fase REM (Escudero y Márquez-Ruiz, 2008), que produciría un descenso en el tono del recto lateral. Considerando la semejanza entre el gato y la rata, en lo referente a la tendencia tónica del ojo, es muy probable que en la rata opere un mecanismo similar. Por otra parte, el desarrollo de un incremento en la tasa de disparo tónica de las motoneuronas del recto medial, también podría explicar la convergencia tónica durante la fase REM. Las principales entradas a las motoneuronas del recto medial, provienen de las interneuronas del núcleo del motor ocular externo contralateral (Highstein y col., 1982) y de las neuronas vestibulares de segundo orden, a través del tracto de Deiters (Reisine y col., 1981; McCrea y col., 1987). Pese a que las interneuronas y las motoneuronas del núcleo del motor ocular externo parecen recibir entradas similares durante la vigilia, la actividad de estas interneuronas no ha sido registrada todavía, por lo que no se puede descartar la posibilidad de que carezcan de la inhibición que presentan las motoneuronas durante la fase REM. Por otra parte, las neuronas vestibulares de segundo orden parecen mantener una tasa de disparo tónica durante la fase REM (Bizzi y col., 1964), por lo que también podrían ser responsables de la señal tónica de las motoneuronas del recto medial.

La actividad del circuito premotor extraocular durante la fase REM permanece prácticamente inexplorada. Se desconoce, hasta qué punto, las neuronas que controlan las señales de velocidad y posición ocular durante la vigilia, permanecen activas durante la fase REM. Entre la poca información disponible, destacan los registros que se llevaron a cabo en el núcleo intersticial de Cajal (Fukushima y Fukushima, 1990), el generador de posición para los movimientos oculares en el plano vertical (Fukushima y Fukushima, 1992; Missal y col., 2000). Con estos registros, se demostró que algunas neuronas de esta estructura continuaron produciendo actividades fásicas y tónicas durante la fase REM, aunque su capacidad para mantener la descarga tónica, estuvo disminuida en comparación con los periodos de vigilia. Sería interesante conocer si las neuronas del núcleo prepositus hipoglossi, el generador de la señal de posición ocular para el plano horizontal (Cannon y Robinson, 1987; Cheron y Godaux, 1987; Escudero y col., 1992), comparten el comportamiento descrito para las del núcleo intersticial de Cajal. En cualquier caso, aunque la mayoría de las poblaciones de neuronas extraoculares han sido muy bien caracterizadas respecto de la posición y la velocidad ocular durante la vigilia, resultaría difícil caracterizar su actividad durante la fase REM, ya que la inhibición que existe a nivel de las motoneuronas tenderá a disminuir el movimiento de los ojos.

Por otro lado, de las similitudes en el comportamiento tónico de los ojos durante la fase REM, en especies con estrategias visuales tan diferentes durante la vigilia como la rata y el gato, se deduce que los mecanismos generadores de la inhibición motora durante la fase REM deben estar altamente conservados en mamíferos. Este hecho es de especial relevancia si se considera que, en las últimas décadas, la rata ha sustituido progresivamente al gato en los laboratorios, convirtiéndose en el principal modelo de estudio de los mecanismos generadores de la atonía muscular durante la fase REM del sueño.

5.1.3 Actividades fásicas durante el periodo de transición a sueño REM

Numerosos estudios han descrito las características del periodo de transición desde el punto de vista de la actividad EEG (Trachsel y col., 1988; Glin y col., 1991; Gottesmann, 1992, 1996), la onda PGO (Steriade y col., 1989; Datta y Hobson, 1994; Datta, 1997; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008) y los movimientos oculares (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008). Al igual que se ha descrito en el gato, los movimientos oculares rápidos en la rata, hacia el comienzo del periodo de transición, aparecieron aislados y presentaron una única componente de velocidad, pudiendo darse en uno o en ambos ojos sincrónicamente. Conforme el periodo de transición progresó, los movimientos oculares tendieron a agruparse, y mostraron componentes dobles de velocidad. Aunque se desconoce el origen primario de estos movimientos oculares rápidos, el aumento progresivo en número, complejidad y organización rítmica de los mismos, recuerda algunos de los efectos inducidos, por las inyecciones del agonista colinérgico carbacol en el núcleo reticular caudal del puente en el gato (Márquez-Ruiz y Escudero, 2010). A diferencia de lo descrito en el gato (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), los movimientos oculares rápidos en la rata durante el periodo de transición afectaron tanto al plano horizontal como al vertical. La dirección de los movimientos verticales dependió de la posición tónica previa que mostró el ojo. Así, cuando el ojo estuvo centrado en la órbita, los movimientos tendieron a consistir en infraducciones rápidas, mientras que cuando el ojo estuvo tónicamente en infraducción, hacia el final de la transición, los movimientos rápidos fueron supraducciones.

El incremento progresivo de la actividad y ritmicidad de los movimientos oculares hacia el inicio de la fase REM, parece no ser un fenómeno exclusivo del sistema oculomotor. Fenómenos similares han sido descritos en la musculatura lingual de la rata (Lu y col., 2005; Rukhadze y col., 2011) y en el sistema respiratorio del gato (Orem y col., 2000), lo que podría indicar que estos sistemas sufren una modulación similar de sus actividades durante la transición a sueño REM. De hecho, la alta concentración de activaciones fásicas de la

musculatura lingual, en comparación con la musculatura de la nuca (Lu y col., 2005; Rukhadze y col., 2011), se asemeja a lo aquí descrito para la actividad extraocular. No obstante, a diferencia de lo descrito para los movimientos oculares (Escudero y Márquez-Ruiz, 2008), la actividad del diafragma en el gato mostró una baja correlación cuando se comparó con la ocurrencia de las ondas PGO (Orem y col., 2000), lo que indicaría que, pese a la existencia de mecanismos reguladores comunes, diferentes sistemas motores podrían estar sometidos a modulaciones específicas de su nivel de actividad.

5.1.4 Actividades fásicas durante la fase REM

Al igual que se ha descrito para el cobaya (Escudero y Vidal, 1996) y para el gato (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), las agrupaciones o brotes de movimientos oculares rápidos constituyeron el fenómeno fásico más característico de la fase REM en la rata. Dentro de un brote, cada movimiento presentó dos componentes que ocurrieron de forma consecutiva y en direcciones opuestas. En el gato, se ha demostrado que cada una de estas componentes tienen lugar en el mismo instante que las ondas PGO primaria y secundaria que se registraron a nivel los núcleos del motor ocular externo (Escudero y Márquez-Ruiz, 2008). En la rata, ambas componentes de los movimientos oculares rápidos fueron cualitativamente similares a las descritas en el gato, lo cual es bastante significativo considerando las diferencias en los sistemas visuomotores de ambas especies. Esta similitud, apoya la hipótesis por la que este tipo de movimiento ocular, así como su organización rítmica durante sueño REM, son comunes entre diferentes especies de mamíferos. Por otra parte, la conservación entre especies, independientemente de las estrategias visuomotoras que pudieran presentar durante la vigilia, sugiere que los movimientos oculares rápidos son activaciones fásicas, similares a las que tienen lugar en otros sistemas motores como el orofacial (Nakamura y col., 1978; Chase y col., 1980; Lu y col., 2005, Rukhadze y col., 2011) y no tienen por qué estar necesariamente relacionadas con la exploración visual.

Los movimientos rápidos en el plano vertical en la rata, al igual que en el gato (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008), estuvieron compuestos por breves supraducciones. Aunque este tipo de rotación se tendría que explicar primariamente por la activación de los músculos recto superior y/u oblicuo superior, no se puede excluir la posibilidad de que pudieran ser inducidos por activaciones fásicas del músculo *retractor bulbi*. Así, la contracción de este músculo produciría simultáneamente una elevación rápida que acompañaría a la componente primaria de retracción del ojo (McCough y Adler, 1932; Delgado-García y col., 1990). Esa teoría se

podría ver reforzada si se considera que el músculo *retractor bulbi* se compone principalmente de fibras rápidas (Steinacker y Bach-y-Rita, 1968; Lennerstrand, 1974), y que parte de éstas, a pesar de que el músculo es controlado principalmente por las motoneuronas del núcleo del motor ocular externo accesorio, reciben inervación de las motoneuronas del núcleo del motor ocular externo (Spencer y col., 1980). Por otra parte, las motoneuronas del núcleo del motor ocular externo accesorio están íntimamente relacionadas con las motoneuronas del núcleo del motor ocular externo y comparten un mismo origen embrionario (Terni, 1922; Shaner, 1934; Levi-Montalcini, 1942), por lo que estas podrían ser igualmente sensibles a las activaciones fásicas durante la onda PGO, generando la componente de retracción. Esto también podría explicar por qué los movimientos oculares rápidos, durante el periodo de transición, consisten en breves infraducciones cuando la posición del ojo se encuentra por encima de la posición central y supraduccionen cuando está por debajo. Por otra parte, si se considera la protrusión de los globos oculares en la rata, también deberían tenerse en cuenta las contracciones rápidas del músculo orbicular del ojo, como un posible mecanismo de la generación de los movimientos oculares rápidos durante sueño REM. En cualquier caso, como se discutirá más adelante, las velocidades pico del ojo no coincidieron con las que se observaron durante los parpadeos en vigilia, lo que parece sugerir que la contribución del músculo *retractor bulbi*, si existe, debe ser mínima.

5.1.5 Relaciones entre la velocidad y la amplitud de los movimientos oculares durante la vigilia y la fase REM

Está bien aceptado que las relaciones entre amplitud, duración y velocidad pico de los movimientos oculares, permiten caracterizar la dinámica de la planta oculomotora, así como hacer predicciones sobre su control neural. En consonancia con esto, los resultados mostraron que, durante la vigilia, las rectas de regresión que se ajustaron a las relaciones entre la velocidad pico y la amplitud de los movimientos oculares sacádicos y los que ocurrieron durante el parpadeo y la roedura, tuvieron pendientes diferentes, como no podría ser de otro modo, ya que estos tipos de movimientos estuvieron generados por distintos sistemas motores y sometidos a diferentes sistemas de control. En este mismo sentido, la pendiente de la relación entre la velocidad pico y la amplitud de los movimientos oculares sacádicos durante la vigilia y la de los movimientos oculares rápidos de la fase REM fueron similares, lo que sugiere que los movimientos oculares rápidos durante el sueño debieron ser producidos por la actividad de la musculatura extraocular y que las actividades fásicas de origen trigeminal

durante la fase REM (Kato y col., 2007; Anaclet y col., 2010) no contribuyeron de manera importante a la generación de estos movimientos.

No obstante, existe cierta discrepancia sobre los valores de las pendientes de la relación velocidad- amplitud de los movimientos oculares rápidos durante la fase REM, en comparación con la de los movimientos sacádicos durante la vigilia. Así, se ha descrito que durante la fase REM, las pendientes son similares (Zhou y King, 1997) o inferiores (Fuchs y Ron, 1968; Aserinsky y col., 1985) en primates, pero mayores en el cobaya (Escudero y Vidal, 1996) y en el gato (Vanni-Mercier y col., 1994; Márquez-Ruiz y Escudero, 2008). En la rata, las pendientes durante ambos estados fueron muy similares y durante la fase REM mostraron valores muy parecidos a los que se han obtenido en el cobaya (Escudero y Vidal, 1996) y durante la primera componente de los movimientos oculares rápidos en el gato (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008).

Aunque no hay pruebas directas, las discrepancias entre especies podrían deberse a la proporción diferente de fibras que componen los músculos extraoculares en las diferentes especies estudiadas. Los músculos extraoculares de la rata, se componen principalmente de fibras de contracción rápida con baja resistencia a la fatiga, que representan hasta el 90% de las fibras de la capa global del músculo y hasta el 80% de la capa orbital (Mayr, 1971). Esto sugiere que la musculatura extraocular en la rata está adaptada a la ejecución de actividades de tipo fásico. En comparación con la rata, la musculatura extraocular del gato muestra una proporción menor de fibras de contracción rápida, lo que sugiere que la musculatura extraocular está más especializada en la resistencia a la fatiga, que le permite una respuesta más lenta y sostenida (Pilar, 1967; Hanson y Lennestrand, 1977). Estas diferencias musculares correlacionan con el comportamiento oculomotor de estas especies y podría explicar por qué las ratas ejecutan movimientos sacádicos más rápidos que los gatos durante la vigilia y la fase REM del sueño. Otra explicación, no excluyente, podría residir en las diferencias entre los rangos de velocidad pico y amplitud desarrollados por cada especie en cada fase. Se sabe que esta relación es lineal en los rangos centrales de movimiento, pero que tiende a saturar cuando se consideran los movimientos de mayor amplitud (Becker, 1989). La existencia de diferencias de amplitud para los movimientos en vigilia y REM, y la selección de los rangos de amplitud que se han usado para el ajuste de modelos lineales, a pesar de que los valores no se ajustaran a un modelo lineal, podría explicar parte de las discrepancias. En este sentido, si se comparan los resultados aquí presentados con los referidos por Márquez-Ruiz y Escudero (2008) para el gato, se puede observar que, mientras que, en la rata, las amplitudes de los movimientos entre la vigilia y el sueño fueron equivalentes, los movimientos oculares del gato, fueron de una amplitud muy inferior durante la fase REM en comparación con la vigilia. En

cualquier caso, cabe resaltar que en otro estudio, realizado también en el gato (Vanni-Mercier y col., 1994), se obtuvieron pendientes mayores durante la fase REM, a pesar de que se consideraron rangos de amplitud mayores que los que analizaron Márquez-Ruiz y Escudero (2008). En el mismo sentido, en el cobaya (Escudero y Vidal, 1996), la pendiente de esta relación también fue mayor durante la fase REM que durante la vigilia, a pesar de que los rangos de movimiento fueron similares. Así pues, se puede afirmar que las diferencias encontradas entre especies se deben fundamentalmente a las diferencias anatómico-funcionales de la musculatura extraocular y no a problemas metodológicos.

No obstante, y a pesar de estas discrepancias en las propiedades dinámicas, conviene destacar la existencia de fuertes similitudes en las propiedades fásicas y tónicas de los movimientos oculares durante la fase REM entre especies tan diferentes como el gato y la rata. La similitud y el grado de conservación de estos fenómenos, entre especies tan distantes en la escala filogenética, indica un desarrollo evolutivo temprano de los mecanismos generadores de los movimientos oculares y plantea la posibilidad de que, estos mecanismos, jueguen un papel importante en la función de este estado.

5.2 Desarrollo de un sistema portátil para el registro de los movimientos oculares

Considerando lo expuesto en el apartado anterior, parece claro que, la identificación de los movimientos oculares resulta de gran valor para la identificación correcta de las diferentes fases del ciclo vigilia-sueño. Como se discutió anteriormente, el EOG -la técnica más extendida para detectar los movimientos oculares en estudios de sueño- presenta grandes limitaciones para identificar muchos de los movimientos oculares. El registro con EOG resulta muy variable y se modifica, por ejemplo, por los niveles de iluminación (Arden y Kelsey, 1962; Schlag y col., 1983; Steinberg y col., 1985), la presión sanguínea de O_2 y CO_2 , o el pH (Lisenmeier y col., 1983; Niemeyer y Steinberg, 1984). Estos cambios en el valor del dipolo corneo-retinal, ocurren de manera lenta y son registrados como derivas espontáneas (Arden y Kelsey, 1962; Schlag y col., 1983), lo que los hace indistinguibles de los auténticos cambios de posición en la rotación del ojo. Además, el bajo voltaje de la señal EOG, la hace susceptible de ser contaminada por otras señales eléctricas como la de la musculatura facial o la del tejido cerebral cercano a los electrodos, lo que impide la correcta discriminación de la señal producida por la rotación del globo ocular. Esta limitación, es de especial relevancia si se considera, además, la escasa amplitud de los movimientos oculares rápidos que ocurrieron durante la transición a la fase REM y en buena parte de la fase REM, que los haría pasar desapercibidos en el registro con

EOG. Esta limitación es aún peor en roedores, en los que los tejidos blandos que rodean al ojo, sobre los que se colocan los electrodos de EOG, provocan artefactos asociados a la propia actividad muscular y al desplazamiento de estos tejidos producidos durante la masticación y los parpadeos, que pueden ser confundidos con auténticos movimientos oculares. Este es un problema de especial relevancia durante la fase REM, en la que la actividad fásica no solo afecta a los movimientos oculares, sino también a la musculatura facial (Anaclet y col., 2010) y cuyas activaciones no coinciden necesariamente con la de los movimientos oculares (Cespuglio y col., 1977).

Sin duda, la técnica del seguidor magnético de la posición ocular (Robinson, 1963; Fuchs y Robinson, 1966) supone el método más preciso que se ha desarrollado para medir los componentes rotacionales del globo ocular, sobre todo con los párpados cerrados como ocurre durante el sueño. El bajo nivel de ruido, la alta sensibilidad y la simplicidad hacen, de esta herramienta de registro, la mejor para cuantificar las características de los movimientos oculares. No obstante, esta técnica requiere de la inmovilización de la cabeza del animal para mantener las bobinas oculares en una región limitada del campo magnético, un requerimiento que resulta de especial relevancia en los estudios de sueño. Algunas modificaciones de la técnica, como el uso de compartimentos especiales con diferentes generadores de campo magnético y el registro simultáneo de la posición de la cabeza y de los ojos, han permitido, en conejos (Collewijn, 1977) y peces (Plotkin y col., 2008), la medida de los movimientos oculares sin necesidad de restringir la movilidad del animal. Aunque este abordaje resulta efectivo, requiere del uso de compartimentos bien blindados que eviten las perturbaciones de los campos magnéticos. Recientemente, Bremen y col. (2010) han empleado un abordaje diferente en monos. Estos autores emplearon un pequeño anillo de oro, implantado en el ojo, y ubicado a escasa distancia de otra bobina de registro, situada frente al ojo. En el interior de un campo magnético oscilante, el anillo de oro indujo diferentes voltajes que dependieron de la orientación del ojo respecto de la bobina de registro ubicada frente al ojo. Este abordaje solucionó muchas de las limitaciones asociadas a la inmovilización del animal, consiguiendo niveles de resolución comparables a los de la técnica original.

Los beneficios de la portabilidad han conducido también al desarrollo de técnicas alternativas basadas en imanes fijados al globo ocular (Salas y col., 1999; Rodríguez y col., 2001; Schwarz y col., 2013). Estos estudios se han realizado en animales sin párpados o con ojos sustancialmente mayores que los de la rata o el ratón. Teniendo en cuenta que, el tamaño del globo ocular y la presencia de párpados imponen limitaciones importantes al tamaño del imán que se puede implantar y que, la intensidad del campo magnético es directamente

proporcional al tamaño del imán, la resolución de estas técnicas podría resultar limitante para su aplicación en mamíferos pequeños.

En conclusión, el sistema portátil de registro de la posición ocular que se ha desarrollado en la presente Tesis, debe ser considerado como una alternativa conveniente en aquellos experimentos en los que la detección precisa de la ocurrencia de fenómenos fásicos y tónicos de los movimientos oculares sea requerida, al mismo tiempo que se deba garantizar la movilidad del animal. El sistema de registro portátil supone una valiosa herramienta para el estudio de la relación entre los eventos fásicos asociados al ojo y otras actividades fisiológicas durante el sueño, en animales pequeños de laboratorio, resolviendo las limitaciones actuales que existen para este tipo de registro en libertad.

5.3 Fenómenos tónicos y fásicos en la actividad EEG durante el sueño

Desde las primeras descripciones (Berger, 1929), la actividad EEG se ha convertido en la técnica más utilizada para identificar los estados de alerta. En esencia, el EEG de baja frecuencia y gran amplitud se asocia con la fase NREM, mientras que las actividades de alta frecuencia y baja amplitud se relacionan con la vigilia y la fase REM del sueño. Estas asociaciones, que se derivan de las primeras observaciones que se realizaron en humanos (Dement y Kleitman, 1957b; Johnson y col., 1969) y gatos (Dement, 1958), fueron confirmadas, posteriormente, en especies como la rata (Robinson y col., 1977; Young y col., 1978; Gottesmann, 1992; Corsi-Cabrera y col., 2001), el conejo (Tobler y col., 1990) o el cobaya (Jouvet-Mounier y Astic, 1966; Escudero y Vidal, 1996). No obstante, las similitudes que se encontraron en el EEG de la vigilia y de la fase REM (Jouvet y col., 1959), hicieron obligatorio el uso del EMG y de los movimientos oculares para distinguir, de forma precisa, entre estos dos estados.

Los resultados de la presente Tesis Doctoral han puesto de manifiesto la existencia de diferencias significativas en la actividad EEG entre la fase REM y otros estados de alerta, especialmente cuando se consideran la actividad theta y las frecuencias por encima de los 100 Hz. Concretamente, las características internas, topográficas, de relación con otras bandas de frecuencia y entre hemisferios, revelaron la existencia de una banda, en el rango comprendido entre los 110 y 160 Hz y con un pico alrededor de los 130 Hz, que caracterizó y delimitó, sin confusión posible, a la fase REM en la rata. Las características fásicas, la relación con otras actividades tónicas y la organización cortical de esta actividad durante la fase REM, han

constituido el objetivo principal de la presente Tesis Doctoral en cuanto a la actividad EEG se refiere.

5.3.1 Actividad EEG durante la fase REM

El espectro de frecuencias durante la fase REM mostró un marcado ritmo theta, un incremento en potencia en la banda gamma, a partir de los 30 Hz, y una actividad conspicua entre 110 y 160 Hz, con un pico alrededor de 130 Hz. La existencia de actividad theta y el incremento de la actividad gamma durante la fase REM, coincide con lo que clásicamente se ha descrito en la rata (Young y col., 1978; Gottesmann, 1992; Corsi-Cabrera y col., 2001; Jing y col., 2016). Tanto theta como gamma estuvieron presentes también durante los periodos de vigilia, confirmando las observaciones clásicas que afirmaban que REM y vigilia eran indistinguibles desde el punto de vista de la actividad EEG (Jouvet y col., 1959). No obstante, este parecido entre el EEG de la vigilia y de la fase REM se debe, sobre todo, a que, en la mayoría de los trabajos clásicos, raramente se han tenido en cuenta las actividades que estuvieran por encima de los 30-40 Hz. En los últimos años, sin embargo, la exploración de bandas de frecuencias, cada vez más elevadas, ha permitido describir la existencia de frecuencias entre 110 y 160 Hz en el EEG del ratón (Scheffzük y col. 2011; Brankač y col. 2012) y de la rata (Sirota y col., 2008) durante la fase REM. En este sentido, los presentes resultados no solo han mostrado que exista un incremento de potencia espectral en esta banda durante REM, sino que este incremento, junto con la actividad theta, fue el fenómeno de mayor prominencia en comparación con las actividades de cualquier otro estado.

Los presentes resultados también mostraron que la actividad de alta frecuencia, lejos de ser una oscilación continua, tuvo lugar en brotes que ocurrieron en fase con oscilaciones en el rango de theta. La dependencia de actividades de alta frecuencia de la fase de ritmos más lentos, también se ha descrito previamente. Concretamente, la existencia de oscilaciones de alta frecuencia, asociadas al ritmo theta, se han descrito en la corteza cerebral (Canolty y col., 2006; Sirota y col., 2008; Scheffzük y col., 2011; Brankač y col., 2012), el hipocampo (Tort y col., 2008; Colgin y col., 2009; Scheffer-Teixeira y col., 2012), el núcleo accumbens (Hunt y col., 2009), la amígdala central y el núcleo del lecho de la estría terminal (Haufler y Paré, 2014).

5.3.2 Desarrollo temporal de theta y de la actividad de alta frecuencia durante la transición a la fase REM

En esta tesis se ha demostrado que, durante el periodo de transición desde la fase NREM a REM, se produjo un desarrollo progresivo de actividad theta y de alta frecuencia, y que la actividad theta se desarrolló ligeramente antes que la actividad de alta frecuencia. El aumento de potencia espectral de la actividad theta y de alta frecuencia durante la transición, requeriría que las unidades que funcionan en ambos rangos de actividad y que, por tanto, son responsables de ambas oscilaciones, fuesen incrementando progresivamente su sincronía y/o su nivel de actividad. Aunque hasta el momento no existen descripciones de cómo estas actividades se van desarrollando a nivel cortical en roedores, desde hace tiempo está descrito que las neuronas corticales comienzan a incrementar progresivamente su actividad justo antes del establecimiento de la fase REM (McCarley y Hobson, 1970). Esta activación progresiva de la corteza hacia el final de la fase NREM, parece coincidir, también, con el incremento gradual de la actividad que ocurre en algunas poblaciones de neuronas del sistema reticular activador ascendente (Magoun, 1952). El sistema reticular ascendente, alcanza la corteza mediante la activación de los núcleos intralaminares talámicos, a través de la vía dorsal, y mediante la activación del prosencéfalo basal, sobre el que convergen las proyecciones que conforman la denominada vía ventral (Brown y col. 2012). Como parte del sistema activador ascendente, se ha descrito que las neuronas reticulares mesencefálicas comienzan a incrementar su tasa de disparo unos 15 segundos antes de que la vigilia o la fase REM estén completamente desarrollados (Steriade y col., 1982). Del mismo modo, en la formación reticular bulbar, se ha descrito otra población de neuronas que proyectan sobre el tálamo e incrementan tónicamente su tasa de disparo, unos 20 segundos, antes de la desincronización del EEG durante la fase REM (Steriade y col., 1984). Junto a estas poblaciones, también se ha demostrado que, en el gato, las neuronas colinérgicas del PPT incrementan su tasa de disparo 1 minuto antes de la desincronización del EEG, por lo que se ha considerado, a estas neuronas, como las mejores candidatas para iniciar el periodo de transición, y activar a las neuronas tálamo-corticales y bloquear los husos de sueño por la inhibición de las neuronas reticulares talámicas (Steriade y col. 1990).

Los resultados presentes también mostraron que, prácticamente desde su inicio, la amplitud de la alta frecuencia estuvo ligada a la fase de theta y que las bandas de frecuencia, tanto de theta como de alta frecuencia, fueron las mismas desde el inicio de la transición. La única diferencia que se encontró, respecto de la relación entre la oscilación de alta frecuencia y theta, durante el periodo de transición y durante la fase REM consolidada, fue que los

valores de los índices de comodulación fueron menores al comienzo de la transición. Como este índice constituye una medida de la relación entre potencia y fase entre distintas frecuencias, la existencia de comodulación pero con un valor más bajo del índice implica que, al inicio de la transición, la amplitud de la alta frecuencia fue menor, pero que la relación de fase existió desde el principio.

5.3.2.1 Relación temporal entre el desarrollo de la alta frecuencia y las variables clásicas del polisomnograma durante la transición

El estudio del desarrollo temporal de la actividad de alta frecuencia, en relación a las principales variables que se suelen emplear en la identificación de las fases NREM y REM, reveló que el periodo en que se desarrolló la alta frecuencia, abarcó un intervalo de tiempo que comprendió tanto la extinción de las principales actividades que caracterizan la fase NREM, como la aparición de las que identifican la fase REM.

Estos resultados son interesantes porque definen la transición a la fase REM como un intervalo en el que ocurren cambios de actividad en todas las variables clásicas y no se centra solo en el momento de cambio de una sola variable o en los cambios en una determinada estructura o sistema, como ha sido lo habitual en los estudios precedentes. Así, en la literatura, se pueden encontrar numerosos trabajos en los que se definió el inicio de la transición en base a la actividad EEG (McCarley y Hobson, 1970; Gottesmann, 1973, 1992, 1996; Gottesmann y col., 1984; Traschel y col., 1988; Glin y col., 1991; Neckelmann y Ursin, 1993; Benington y col., 1994; Mandile y col., 1996; Ferri y col., 2001, Kirov y Moyanova, 2002; Capitani y col., 2005), la ocurrencia de ondas PGO (Steriade y col., 1989; Datta y Hobson, 1994; Datta, 1997; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008), la actividad muscular (Orem y col., 2000; Lu y col., 2005), el comportamiento de motoneuronas (Nakamura y col., 1978; Chase y col., 1980; Escudero y Márquez-Ruiz, 2008) y los movimientos oculares (Márquez-Ruiz y Escudero, 2008).

El presente estudio reveló, también, que los cambios en los fenómenos corticales precedieron a los motores, independientemente del carácter fásico o tónico de las diferentes actividades. Concretamente, a nivel cortical, el desarrollo de theta justo antes del inicio de la actividad de alta frecuencia, el comienzo de la extinción de la actividad delta tras del inicio de la alta frecuencia y la ocurrencia del último huso de sueño, inmediatamente después de que la actividad de alta frecuencia alcanzara el 50% de su potencia máxima, fueron los primeros fenómenos que ocurrieron durante el periodo de transición.

La supresión del ritmo delta y la posterior ocurrencia del último huso de sueño, fueron coherentes con la secuencia lógica de eventos de la dinámica ponto-talámico-cortical. Se sabe, que hacia el final de la fase NREM, la activación de las neuronas reticulares talámicas, induce una despolarización de las neuronas tálamo-corticales que progresivamente suprimen el componente delta, permitiendo así la aparición de los husos (Steriade y col. 1982). En este sentido, Gottesmann y colaboradores definieron el periodo de transición como la coexistencia de ondas lentas corticales, husos de sueño de gran amplitud y un marcado ritmo theta (Gottesmann y Gandolfo, 1986; Glin y col., 1991). No obstante, el que la banda de alta frecuencia se siga desarrollando después de la desaparición de los husos, es una evidencia de la continuación de la transición a nivel cortical tras este periodo.

Desde el punto de vista motor, durante el periodo de transición, el primer movimiento ocular rápido ocurrió después de que la alta frecuencia alcanzó el 50% de su potencia máxima, mientras que el desarrollo completo de la atonía de la musculatura de la nuca coincidió, prácticamente, con el desarrollo total de la actividad de alta frecuencia. El sistema oculomotor aporta una valiosa información acerca del resto de sistemas motores. La aparición de los movimientos oculares rápidos y su coincidencia con las ondas PGO (Escudero y Márquez-Ruiz, 2008), justo después del momento de ocurrencia del último huso de sueño en la corteza, refleja la existencia de importantes mecanismos transicionales a nivel del tronco del encéfalo. Por otro lado, las derivas tónicas de los ojos, comenzaron poco después de este primer movimiento y del inicio de la atonía del resto de la musculatura somática. Una tendencia similar ha sido descrita, también en la rata, por Rukhadze y colaboradores (2011), quienes mostraron que, a diferencia de lo que ocurre con los músculos geniogloso y geniohioides, la inhibición de la musculatura del cuello, continuó desarrollándose durante más de 10 segundos después del inicio de la fase REM, delimitada en base a la actividad cortical.

Estos resultados en la rata, parecen indicar la existencia de un retraso en el fenómeno tónico de inhibición motora respecto del de la actividad cortical y contrastan con lo descrito en el gato por Chase y colaboradores, quienes afirmaron que la inhibición motora solía correlacionar con la desincronización del EEG (Chase y col., 1980; Chase y Morales, 2005). No obstante, estos autores también afirmaron que el proceso de hiperpolarización de las motoneuronas, que es el fundamento de la inhibición de la musculatura (Morales y Chase, 1978; Nakamura y col., 1978; Soja y col., 1991. Chase y col., 1980; Kohlmeier y col., 1996; Yamuy y col., 1999), continuó más allá del momento en que detectó la supresión del tono a nivel del EMG. De acuerdo con estas afirmaciones, la discrepancia con la tendencia observada

en la rata, podría deberse a una diferencia en la latencia del desarrollo de la atonía entre estas dos especies.

El retraso en el desarrollo de los fenómenos de inhibición motora respecto de la activación cortical, resulta especialmente llamativo si se considera que, tanto el control del sistema activador ascendente como el de la inhibición motora, tienen su origen en las neuronas REM-on del tronco del encéfalo (Sakai, 1988; Sakai y col., 2001). Estas neuronas se localizan, casi exclusivamente, en una región del subcoeruleus que se denomina perilocus- α en el gato, (Sakai y col., 1979; Sakai y col., 2001). La región más rostral del perilocus- α contiene neuronas que proyectan hacia el tálamo y el hipotálamo, y son responsables de los fenómenos de activación cortical. Las neuronas de la región más caudal, proyectan de manera descendente y son responsables de los fenómenos de atonía (Sakai, 1991; Sakai y col., 2001; Brown y col., 2012). En la rata, el control de la fase REM se realiza de manera similar, si bien en esta especie, la población equivalente de neuronas REM-on, se localiza en la región del núcleo sublaterodorsal (Boissard y col., 2002). La cercanía de estas dos poblaciones de neuronas, que ambas sean de tipo glutamatérgico (Clément y col., 2011) y que todas muestran un disparo tónico similar (Sakai, 1988; Sakai y col., 2001), sugiere que el retraso motor en la rata se deba a que la ruta descendente, que genera la atonía muscular, es un sistema más lento que el que genera la activación cortical.

Tanto en el gato como en la rata, se ha descrito la existencia de dos vías alternativas por las que las proyecciones descendentes inducen la inhibición motora a nivel espinal (Brown y col., 2012; Chase, 2013). En el gato, en la primera de estas vías, las proyecciones excitadoras del perilocus, activarían a neuronas glicinérgicas bulbares (Rampon y col., 1996) del núcleo reticular gigantocelular, del núcleo magnocelular y del núcleo paramediano de la formación reticular, que proyectarían directamente sobre las motoneuronas (Lai y Siegel, 1988; Takakusaki y col., 2001; Habaguchi y col., 2002) e interneuronas espinales (Takakusaki y col., 2001). En la rata, en base a la presencia de neuronas glutamatérgicas en el núcleo sublaterodorsal, éstas actuarían excitando a las neuronas glicinérgicas del núcleo reticular gigantocelular (Clément y col., 2011).

La persistencia de la atonía tras la lesión de las neuronas de la región ventral del bulbo implicadas en la primera vía (Lu y col., 2006a; Vetrivelan y col., 2009) y la reducción del nivel de atonía tras la inactivación de las interneuronas inhibitorias del asta ventral (Krenzer y col., 2011), sugieren la existencia de una segunda vía en la que la inhibición motora sería, en gran medida, el resultado del circuito local espinal, en el que las interneuronas glicinérgicas

proyectan sobre las motoneuronas. No obstante, el incremento en la actividad fásica tras la lesión de las neuronas inhibitorias bulbares (Vetrivelan y col., 2009), se interpreta como un fenómeno de desinhibición de las motoneuronas espinales (Siegel, 2011; Chase, 2013), que indicaría la necesidad de la primera vía, para que la motoneurona alcanzase el nivel de hiperpolarización necesario para un correcto desarrollo del fenómeno de inhibición motora.

Según todo lo anterior, el candidato más plausible a producir el retraso de la inhibición motora en relación a los fenómenos de activación cortical, parece ser la propia motoneurona. Como se ha descrito para las motoneuronas trigeminales y lumbares en el gato, la inhibición es un proceso gradual y lento -en el rango de segundos-, que resulta de la hiperpolarización de la membrana (Morales y Chase, 1978; Nakamura y col., 1978), como consecuencia del bombardeo glicinérgico (Chase y col., 1989; Soja y col., 1991; Chase, 2013) que ésta comienza a recibir segundos antes de la entrada en REM, y que continúa desarrollándose hasta más allá de la identificación de la fase REM consolidada (Chase y col., 1980; Chase y Morales, 2005). Considerando esto, resulta lógico que de entre las variables aquí estudiadas, la atonía en la musculatura del cuello se produzca en último lugar, cuando el fenómeno cortical de alta frecuencia se encuentra próximo a completar su desarrollo.

De acuerdo con todo lo anterior, parece legítimo redefinir el periodo de transición entre NREM y REM, de manera que englobe a todas las variables discutidas, incluyendo tanto los fenómenos corticales como los motores. El hecho de que la sucesión de estos fenómenos tuviera lugar en el intervalo de tiempo en que se desarrolló la actividad de alta frecuencia, hace del desarrollo de esta actividad un excelente marcador del periodo de transición, y permite delimitar, con exactitud, la ventana de tiempo en la que se producen los principales cambios en las poblaciones de neuronas responsables de la transición.

5.3.3 Organización cortical de las altas frecuencias

El estudio de la actividad de alta frecuencia en las distintas localizaciones corticales, mostró que estas oscilaciones se pudieron detectar, durante la fase REM, en áreas corticales muy extensas. La mayor potencia espectral se localizó en las regiones centro-parietales y disminuyó conforme el electrodo de registro se localizó más alejado de estas áreas.

Durante la fase REM, la coherencia espectral, entre electrodos de un mismo hemisferio, fue muy elevada en la bandas de theta y de alta frecuencia. Estas altas coherencias sugieren la existencia de fuertes conexiones intrahemisféricas. De forma generalizada, se acepta que

cuando los valores de coherencia entre dos o más regiones cerebrales son elevados, esto se debe a la existencia de una conectividad funcional y al intercambio de información (Leuchter y col., 1994, Achermann y Borbély, 1998). Aunque se ha mostrado, de manera general, que la coherencia cortical en mamíferos decae para localizaciones que distan milímetros entre sí (Bullock y col., 1995), en la corteza somatosensorial de la rata se han descrito coherencias elevadas entre localizaciones distantes hasta 6 mm y que, aunque existe una gran variabilidad, cuando el valor de coherencia fue elevado, se debió a la presencia de conexiones entre esas localizaciones (Bullock y McClune, 1989).

La alta coherencia y la baja variabilidad que caracterizó a las oscilaciones de alta frecuencia aquí descritas y que abarcaron una extensión de hasta 8 mm de la corteza somatosensorial, sugiere la existencia de redes extensas que sustenten este tipo de actividad. La existencia de redes de neuronas corticales, acopladas mediante sinapsis eléctricas que favorecen el disparo sincrónico de sus elementos, se conoce desde hace tiempo (Galarreta y Hestrin, 1999; Gibson y col., 1999), y constituyen el principal sustrato de las oscilaciones en el rango de gamma (Whittington y col., 2000 y 2011).

Si bien, no se puede descartar que las altas frecuencias dentro de un mismo hemisferio pudieran estar controladas por un generador subcortical, la alta coherencia que esta actividad mostró en áreas extensas, no se sustenta en ninguna proyección conocida y hace poco probable esta opción. Además, la generación de este tipo de actividad en la propia corteza, se ve fuertemente apoyada por la presencia, en la rata y el ratón, de generadores corticales de oscilaciones de alta frecuencia y la existencia de neuronas corticales que reclutan en fase con el ritmo theta en la región somatosensorial (Chrobak y Buzsáki, 1998a y 1998b; Sirota y col., 2008), precisamente la región donde se registró la mayor actividad de alta frecuencia en los presentes resultados.

Dado que la actividad de alta frecuencia mantuvo una relación de fase con theta, que el hipocampo constituye la mayor fuente de actividad theta (Colgin, 2013 y 2016) y que también es capaz de generar actividades de alta frecuencia en el rango de 110-160 Hz en fase con theta (Tort y col., 2008; Colgin y col., 2009; Jackson y col., 2011; Scheffer-Teixeira y col., 2012), podría argumentarse que la actividad de alta frecuencia que se registró en la corteza, pudiera tener origen en el hipocampo y que lo que se estuviera viendo a nivel cortical fuese el resultado de un fenómeno de conducción de volumen desde el hipocampo.

En este sentido, la relación de las oscilaciones de alta frecuencia con el ritmo theta, aporta pruebas relevantes a favor de un origen cortical para este tipo de actividad. Aunque

existen pocos estudios en los que se haya abordado la distribución cortical de theta en la rata, se ha descrito que, durante la fase REM, theta muestra una distribución cortical que abarca a la corteza retrosplenial, el área visual secundaria y la región temporal (Jing y col., 2016). Esta distribución, que coincide mayormente con la distribución anatómica del hipocampo en la rata, el cual se localiza justo por debajo de estas regiones, también coincidió con el mapa cortical de theta en los presentes experimentos. Además, el patrón de propagación de theta que se registró en la corteza, coincide con lo descrito para estas oscilaciones en el hipocampo, donde theta se comporta como una onda viajera, que se genera en la región del septo medial y se propaga, primeramente en dirección septo-temporal, radiando, de forma secundaria, en el eje antero-posterior (Lubenov y Siapas, 2009; Patel y col., 2012). En base a esto, no se puede descartar que la actividad theta que se registró en la corteza no fuese el resultado del fenómeno de conducción de volumen.

No obstante, aunque la distribución de theta coincidió, en parte, con la distribución de la alta frecuencia, sobre todo en los niveles más postero-mediales, la distribución de la actividad de alta frecuencia, aquí descrita, fue más rostral. En el mismo sentido en el que las oscilaciones de theta y alta frecuencia mostraron distribuciones corticales diferentes, el análisis de los desfases de ambas oscilaciones también mostró patrones de propagación diferentes. Según estos resultados, a diferencia del patrón radial de la actividad theta, la actividad de alta frecuencia se propagó desde las regiones rostrales hacia las caudales. Este comportamiento contrasta con lo que se ha descrito en el hipocampo de la rata, donde se ha demostrado que las unidades en el eje septo-temporal, disparan siempre en relación con la misma fase de theta (Patel y col., 2012), lo que sugiere que la actividad de alta frecuencia que se registra en la corteza, no es la misma que la que está descrita en el hipocampo.

A todo lo anterior sobre el origen cortical de la actividad de alta frecuencia, cabe añadir que los estudios de registro y lesión del hipocampo, y de otras estructuras en las que se han descrito oscilaciones de alta frecuencia, o que podrían representar una elevada influencia sobre la corteza, no produjeron alteraciones resaltables en la actividad de alta frecuencia a nivel cortical durante la fase REM.

5.3.4 Experimentos de lesión

Pese a que se han descrito oscilaciones de alta frecuencia a nivel cortical (Sirota y col., 2008; Scheffzük y col., 2011; Brankač y col., 2012), el origen de esta actividad continúa siendo

desconocido. En la presente Tesis se hizo un abordaje clásico para intentar localizar el origen de esta actividad. Para ello se realizaron lesiones electrolíticas en aquellas estructuras subcorticales en las que previamente se habían descrito actividades similares y que pudieran transferir esta actividad a la corteza cerebral.

5.3.4.1 Lesión del hipocampo

Como se ha discutido anteriormente, el hipocampo es la estructura donde mejor se han caracterizado las oscilaciones de alta frecuencia respecto de la actividad theta (Tort y col. 2008; Jackson y col. 2011; Scheffer-Teixeira y col. 2012; Takeuchi y col., 2015). La capacidad del hipocampo para producir oscilaciones de alta frecuencia en ausencia de la corteza (Jackson y col., 2011), la existencia de variación en la relación de fase entre las altas frecuencias y theta en las diferentes capas del hipocampo (Scheffer-Teixeira y col. 2012) y la existencia de una inversión de fase de la actividad de alta frecuencia respecto de CA1 (Tort y col., 2008; Sullivan y col., 2011), se han utilizado como argumento de la existencia de un generador de alta frecuencia a nivel de la región CA1 del hipocampo (Tort y col., 2013). Sin embargo, en base a la baja coherencia que se ha encontrado entre la actividad de alta frecuencia cortical, a nivel parietal, respecto de la del hipocampo, también se ha sugerido la existencia de otro generador a nivel cortical (Scheffzük y col., 2011).

En la presente Tesis, el abordaje mediante lesión, para desvincular la alta frecuencia cortical (Sirota y col., 2008; Scheffzük y col., 2011) de la que se genera a nivel de hipocampo, mostró que lesiones extensas del hipocampo dorsal, provocaron la desaparición de la actividad de alta frecuencia a nivel del hipocampo, pero no tuvieron efecto alguno sobre las altas frecuencias a nivel cortical. Esto demuestra que la actividad de alta frecuencia, que se registra en la corteza, es producida por un generador independiente del de hipocampo. Sin embargo, las lesiones de hipocampo produjeron una disminución de potencia de la banda theta, tanto en el propio hipocampo como en la corteza, lo que es coherente con que la actividad theta que se registró a nivel cortical sí sea consecuencia de un fenómeno de conducción de volumen desde hipocampo.

5.3.4.2 Lesión de la amígdala central y del núcleo del lecho de la estría terminal

De acuerdo con el descubrimiento, en el hipocampo, de que la actividad de alta frecuencia depende de la actividad de neuronas GABAérgicas (Jackson y col., 2011), algunos

autores han explorado la existencia de actividades de alta frecuencia en estructuras con poblaciones de neuronas GABAérgicas. Estos trabajos han conducido al descubrimiento de oscilaciones de alta frecuencia en la amígdala central y en el núcleo del lecho de la estría terminal (Haufler y Paré, 2014).

La amígdala central y el núcleo del lecho de la estría terminal forman parte de la denominada subdivisión centromedial que, junto con los núcleos basolaterales y corticales, forman el complejo amigdalino (Sah y col., 2003). A pesar de que las proyecciones del complejo amigdalino a la corteza sensorial son escasas y que estas proyecciones tienen su origen en los núcleos corticales y basolaterales, el que la amígdala central proyecte sobre el núcleo del lecho, y que ambos, a su vez, proyecten sobre diferentes grupos de neuronas de los sistemas ascendentes monoaminérgico y colinérgico (Sah y col., 2003), hizo pensar que la actividad de alta frecuencia cortical pudiera estar modulada indirectamente por estas dos estructuras.

Los presentes resultados mostraron que, si bien las oscilaciones de alta frecuencia se encontraron presentes en la amígdala central y el núcleo del lecho, la lesión de estas estructuras no tuvo efecto sobre la actividad de alta frecuencia cortical. Estos resultados no son raros, ya que la actividad de alta frecuencia en los núcleos amigdalinos estuvo presente durante todas las fases del ciclo vigilia-sueño (Haufler y Paré, 2014) y no fue específica de la fase REM, como fue el caso de la alta frecuencia cortical. Por otro lado, las actividades de alta frecuencia en estas estructuras tampoco mostraron ninguna modulación con la fase de theta, una característica principal de las altas frecuencias corticales.

Resta explicar el incremento inespecífico de la potencia espectral que se observó en la corteza tras la lesión del núcleo del lecho. En este sentido, la extensión de la lesión electrolítica a nivel del núcleo del lecho afectó también al globo pálido y al putamen. Esta lesión podría estar afectando, por tanto, a la vía directa por la que los ganglios basales liberan GABA en el tálamo (Gerfen, 2004), lo que podría haber incrementado la excitabilidad de la corteza a través de las proyecciones tálamo-corticales.

5.3.4.3 Lesión del núcleo parafascicular talámico

El núcleo parafascicular se localiza en la región más caudal del complejo intralaminar talámico y forma parte del sistema talamocortical inespecífico. Este núcleo actúa de relevo entre el sistema reticular activador ascendente del puente, responsable de los estados de

vigilia y sueño REM, y la corteza. Entre las proyecciones del núcleo parafascicular se encuentran las cortezas sensorial y motora, sobre las que se postula que ejerce un control del nivel de actividad (Van der Werf y col., 2002; Gerfen, 2004). Se ha demostrado que, la estimulación de este núcleo, induce un estado de vigilia con actividad gamma en el EEG (Steriade y Demetresco, 1960). También se ha demostrado que las lesiones en éste núcleo interfieren en la actividad oscilatoria cortical en el rango de theta, lo que se hace especialmente patente durante la fase REM (Marini y col., 1998).

Sobre estas evidencias, se consideró que el núcleo parafascicular podría estar ejerciendo algún tipo de influencia sobre las oscilaciones de alta frecuencia cortical, ya fuera favoreciendo la actividad oscilatoria rápida, o la propia actividad theta, sobre la que se organizaron las altas frecuencias.

Los resultados mostraron que, si bien no existió actividad prominente en el rango de las altas frecuencias corticales a nivel del núcleo parafascicular, si se pudo encontrar un pico de actividad en torno a los 80 Hz, que presentó una modulación leve de su amplitud con la fase de theta. Aunque la modulación de esta actividad por theta en el núcleo parafascicular era desconocida hasta ahora, la presencia de oscilaciones en esta frecuencia, coincide con lo descrito en el núcleo parafascicular sobre la existencia de una actividad en la banda de gamma, entre 30 y 90 Hz, dependiente de canales de calcio de tipo P/Q, (Kezunovic y col., 2012; Garcia-Rill y col., 2013). La presencia en el núcleo PPT de neuronas colinérgicas que proyectan sobre las neuronas del núcleo parafascicular, y el que estas neuronas presenten oscilaciones en este mismo rango de frecuencia y estén basadas en la presencia de los mismos canales de calcio, ha llevado a proponer que el PPT podría estar activando a las neuronas del núcleo parafascicular. Así, la actividad del PPT podría transmitir la oscilación gamma a las neuronas del núcleo parafascicular y desde éstas a la corteza cerebral, sustentando este tipo de actividad en el EEG (Kezunovic y col., 2012). En este sentido, el descenso específico en la banda de los 80 Hz que se observó en el EEG tras la lesión del núcleo parafascicular, apoyaría esta teoría, si bien, la indiferencia de las oscilaciones de las frecuencias en la banda de 110-160Hz, sugiere que éstas son independientes del mecanismo de producción de las oscilaciones gamma en el tálamo.

Finalmente, a diferencia de lo descrito por Marini y colaboradores (1998), la lesión del núcleo parafascicular no produjo alteraciones en la potencia espectral de la banda theta que se registró a nivel del EEG. Una posible explicación a esta discrepancia podría residir en el método que se empleó en estos experimentos para lesionar el núcleo parafascicular. Estos autores recurrieron a la perfusión de ácido iboténico para destruir las células del núcleo

parafascicular. Si bien, este tipo de lesión tiene como ventaja que es respetuosa con las fibras de paso y afecta sólo a los somas neuronales, la difusión del compuesto a otras estructuras no se puede controlar fácilmente. Por el contrario, si bien la lesión electrolítica produce una destrucción indiscriminada, sus límites resultan claros y quedan bien definidos en base a la respuesta glial. Considerando que los efectos comunicados por Marini y colaboradores (1998) revirtieron en un plazo de 10 días, pese a la destrucción del núcleo parafascicular, y la relativa cercanía del complejo supramamilar, implicado en la generación del ritmo theta (Kocsis y Vertes, 1994), la alteración de este ritmo podría ser el resultado de los efectos del ácido iboténico sobre el complejo supramamilar.

5.3.5 Comportamiento de las oscilaciones de alta frecuencia entre hemisferios y efecto de la callosotomía

Al contrario que la alta coherencia espectral que se encontró entre distintas regiones de un mismo hemisferio, la coherencia entre localizaciones equivalentes de ambos hemisferios decreció progresivamente para frecuencias superiores a los 30 Hz. Este descenso de coherencia espectral entre hemisferios fue máximo en la banda de alta frecuencia, donde se hizo prácticamente cero. En concordancia con estos resultados, se sabe que, en el gato y en la rata, la coherencia interhemisférica durante la fase REM es muy baja para frecuencias hasta los 100 Hz (Castro y col., 2013 y 2014; Cavelli y col., 2015). Esta baja coherencia podría deberse a que los brotes de alta frecuencia, a pesar de estar en fase con theta y que la fase de theta fue muy similar en ambos hemisferios, coincidieron en ambos hemisferios solo en el 38,2% de las ocasiones.

A pesar de la baja coherencia, el promediado de la actividad de un hemisferio, usando como sincronizador los ciclos de actividad de la oscilación de alta frecuencia en una localización equivalente del otro hemisferio, mostró que los ciclos de alta frecuencia en ambos hemisferios tendieron a ocurrir en oposición de fase. El análisis de dispersión de los ciclos de alta frecuencia en ambos hemisferios mostró una variabilidad de entre 1 y 2 ms entre los ciclos de alta frecuencia. Esto explica el porqué la actividad de alta frecuencia que se reconstruyó en el promedio fue menor y ayuda a interpretar la baja coherencia entre localizaciones equivalentes entre hemisferios.

La existencia de una inversión de fase entre hemisferios implica la existencia de proyecciones entre hemisferios basadas, probablemente, en procesos inhibitorios rápidos. Se

sabe que el cuerpo caloso participa en la modulación de las neuronas corticales (Steriade y col., 1993b; Cissé y col., 2003) y juega un papel importante en los fenómenos de sincronización entre hemisferios, como se deduce de las proyecciones que sustentan la sincronía de las oscilaciones en torno a 40 Hz (Nuñez y col., 1992), y de los análisis de coherencia que se han llevado a cabo en humanos y en ratones con ausencia total o parcial del cuerpo caloso (Kuks y col., 1987; Nielsen y col., 1993; Koeda y col., 1995; Vyazovskiy y col., 2004). Por otra parte, la presencia de inhibiciones entre hemisferios mediadas por el cuerpo caloso, se ha descrito repetidamente en humanos (Ferber y col., 1992; Ragert y col., 2011; Brodie y col., 2014), gatos (Asanuma y Okuda, 1962) y ratas (Palmer y col., 2012).

La inversión de fase de cada ciclo de alta frecuencia sugiere que la actividad de un hemisferio debe ser inhibida por el otro, en un intervalo de alrededor de 3,5 ms, y que por tanto, debe ser un fenómeno mediado por sinapsis rápidas. Considerando que la mayor parte de las proyecciones a través del cuerpo caloso son cortico-corticales y que estas proyecciones, cuando son inhibitorias, muestran latencias de entre 1,2 y 3,1 ms (Cissé y col., 2003), estas proyecciones a través del cuerpo caloso, podrían explicar la inversión de fase de cada ciclo entre hemisferios.

Para estudiar el papel funcional del cuerpo caloso en la relación de la alta frecuencia entre hemisferios, se realizaron experimentos de lesión de esta estructura. La callosotomía completa del cuerpo caloso, indujo la desaparición de la actividad de alta frecuencia en ambos hemisferios. Este resultado inesperado, junto con la independencia de la alta frecuencia cortical de otras estructuras subcorticales, como se desprende de los resultados de los experimentos de lesión anteriormente descritos, sugieren no solo que el cuerpo caloso es el sustento de las interacciones inhibitorias en el rango de alta frecuencia entre hemisferios, como se ha mencionado antes, sino que es una estructura clave para la organización de la actividad de alta frecuencia. De otro modo, se podría decir que las oscilaciones de alta frecuencia requieren de la interacción entre hemisferios para su generación, y que la integridad del cuerpo caloso es necesaria para que se pueda establecer la sincronización de los elementos que generan la actividad de alta frecuencia en ambos hemisferios, durante el sueño REM.

En este sentido, la dependencia que la actividad de alta frecuencia mostró respecto de la integridad del cuerpo caloso, podría ser el resultado de la modulación de la actividad que cada hemisferio ejerce sobre el otro. Si, como se ha propuesto anteriormente, el mecanismo de generación de las altas frecuencias está basado en proyecciones de tipo inhibitorio, la

pérdida de este tipo de entradas, podría generar simplemente la despolarización de los dos hemisferios y, por tanto, cambios en el patrón y/o sincronía de disparo, que condujesen la desorganización de la actividad de alta frecuencia. En cualquier caso la confirmación de esta hipótesis requeriría el registro de las unidades responsables de la actividad de alta frecuencia en situación control y tras la callosotomía.

La callosotomía también produjo la desaparición de la inversión de fase entre hemisferios y un incremento de la coherencia entre hemisferios para frecuencias por encima de los 30 Hz, respecto de la que mostraron los animales control. La pérdida de conectividad entre hemisferios en los animales callosotomizados, podría explicar la pérdida de la inversión de fase en base a la desorganización de la actividad de alta frecuencia.

Por otra parte, el incremento de coherencia que se produjo en la banda de alta frecuencia tras la callosotomía, implica que la desconexión funcional de los hemisferios permitió aflorar actividades más similares en ambos hemisferios. Probablemente, estas actividades provengan de entradas comunes de origen subcortical que ya no son filtradas por la inhibición transcallosa. Este aspecto puede ser de especial relevancia y debería ser considerado en el futuro, ya que, de acuerdo con esto, una conectividad funcional entre áreas cerebrales puede verse también reflejada por valores bajos de coherencia para bandas específicas del espectro, y no exclusivamente por incrementos en los valores de coherencia, como se había propuesto hasta ahora (Leuchter y col., 1994, Achermann y Borbély, 1998).

5.3.6 El ritmo theta como organizador temporal de la actividad de alta frecuencia asociada a la fase REM

Una de las principales características que mostró la actividad de alta frecuencia fue su relación con la fase de theta, como se ha descrito también en trabajos previos (Canolty y col., 2006; Tort y col., 2010). Así, en cada región cortical en la que se hizo un estudio de comodulación, se encontró una relación estable entre la potencia de la actividad de alta frecuencia y la fase de theta. Sin embargo, en cada región cortical, los brotes de alta frecuencia ocurrieron en momentos distintos del ciclo de theta, de modo que la relación de fase entre alta frecuencia y theta no fue constante. El análisis de los desfases de la oscilación de alta frecuencia mostró una organización rostro-caudal, sugiriendo que esta actividad viajera se desarrolló, en primer lugar, en las regiones frontales y después se fue instaurando, progresivamente, en territorios más caudales. La velocidad de propagación de esta actividad

fue de alrededor de 35 m/s, por lo que, si fue debida a una actividad propagada a través de circuitos, estas conexiones deberían ser de tipo eléctrico. Por otro lado, la potencia que alcanzó la alta frecuencia en cada punto de registro fue diferente. Estos dos fenómenos, la comunicación retrasada y la diferencia de potencia entre regiones, sugieren que la actividad de alta frecuencia se debió regenerar en cada región cortical.

Se ha propuesto que, respecto de las altas frecuencias, theta podría jugar un papel conductor, que establece una referencia temporal entre regiones distantes entre las que tuviera que haber una transferencia de información (Lisman y Jensen, 2013). De este modo, zonas alejadas entre sí, mostrarían una actividad con una misma fase respecto de cada ciclo de theta, que podría servir de base para generar otras actividades en la misma ventana temporal. En esta dirección, se ha demostrado que en el hipocampo y en la corteza entorrinal, las oscilaciones de alta frecuencia están sincronizadas con theta y que esto ocurre como resultado del disparo de poblaciones de neuronas que están acopladas al ritmo theta en ambas estructuras (Chrobak y Buzsáki, 1998a y 1998b), y mantienen la relación de fase con theta conforme esta se propaga (Patel y col., 2012). En este sentido, también se ha demostrado que la actividad gamma cortical, en humanos, mantiene la misma relación de fase respecto a la frecuencia portadora en todas las localizaciones estudiadas (Bahramisharif y col., 2013).

Sin embargo, para que este mecanismo fuese el que estuviera operando a nivel cortical durante la fase REM en la rata, la actividad de alta frecuencia debería haber seguido la misma distribución espacial que theta, de modo que la actividad de alta frecuencia hubiera mantenido una relación de fase constante en cada zona cortical respecto del ciclo theta. Como esto no ocurrió, las variaciones de fase que se observaron se podrían interpretar como que la actividad de alta frecuencia en las distintas regiones de la corteza, no solo tendrían que regenerarse en cada punto, como se ha mencionado antes, sino que deberían hacerlo de manera independiente de theta. No obstante, si se considera que la actividad de alta frecuencia se desarrolló antes a nivel rostral y la alta comodulación en todas las zonas de registro, se deduce que, al menos en la región rostral, la alta frecuencia debió ser iniciada por theta. El que la actividad theta rostral, implicada en la generación de la alta frecuencia, tenga su origen en el hipocampo o sea generada a nivel cortical (Young y McNaughton, 2009) debe ser esclarecido.

En conjunto, los resultados derivados de los análisis de fase, sugieren la existencia de un modelo de funcionamiento como el que se representa en la figura 5-1. Según este modelo, en la región rostral de cada hemisferio, debería existir un generador primario de altas frecuencias,

compuesto probablemente por elementos capaces de sensar y responder al ritmo theta (cuadrados en la figura 5-1A a J). Los elementos en estos generadores, se podrían activar al sobrepasar un umbral de voltaje debido a la oscilación theta, y así iniciar la producción de brotes de oscilaciones de alta frecuencia. Estos brotes de alta frecuencia serían transmitidos a generadores secundarios, independientes de theta (círculos en la figura 5-1A a J), a una velocidad de 35 m/s y así se propagaría la oscilación de alta frecuencia. La presencia de este tipo de elementos en el generador primario no resulta extraña, ya que existen neuronas corticales que modifican su patrón de disparo respecto del nivel de alerta, en relación a los cambios en su potencial de membrana (Connors y Gutnick, 1990; Steriade y col., 1993c; Steriade, 1997).

En este modelo, el reclutamiento de unidades en cada hemisferio, al comienzo de cada brote, sería proporcional a la potencia de las proyecciones inhibitorias sobre el hemisferio contralateral (representada por el grosor de las flechas rojas en la figura 5-1). Así, uno de los hemisferios acabaría por imponerse (1 en la figura 5-1C a E), inhibiendo a los elementos del otro hemisferio (2 en la figura 5-1C a E). La actividad de alta frecuencia en el hemisferio no inhibido incrementaría de amplitud con el reclutamiento de nuevos elementos secundarios (círculos verdes de 1 en la figura 5-1C a E). Este desbalance produciría la inversión de fase entre los hemisferios durante la primera parte del primer ciclo de alta frecuencia (figura 5-1K). La progresiva desactivación de los elementos en el hemisferio activo, durante la primera parte del ciclo (círculos blancos de 1 en la figura 5-1F a H), acabaría por debilitar las inhibiciones sobre el hemisferio contralateral, que se impondría, inhibiendo ahora al hemisferio activo anteriormente (círculos verdes de 2 en la figura 5-1G a J), e invirtiendo las condiciones de polaridad durante la segunda parte del primer ciclo de alta frecuencia (figura 5-1K).

Esta dinámica explicaría el papel del cuerpo calloso y la alternancia de fase en la actividad de alta frecuencia, durante el periodo de tiempo en que el pico de amplitud de la actividad theta se propagó a través del generador primario. La mayor velocidad de producción y propagación de las actividades de alta frecuencia, en relación a la velocidad de propagación de la actividad theta, explicaría la producción de varios ciclos de alta frecuencia en cada brote, así como los fenómenos de corrimiento de fase entre ambas actividades en las diferentes localizaciones registradas.

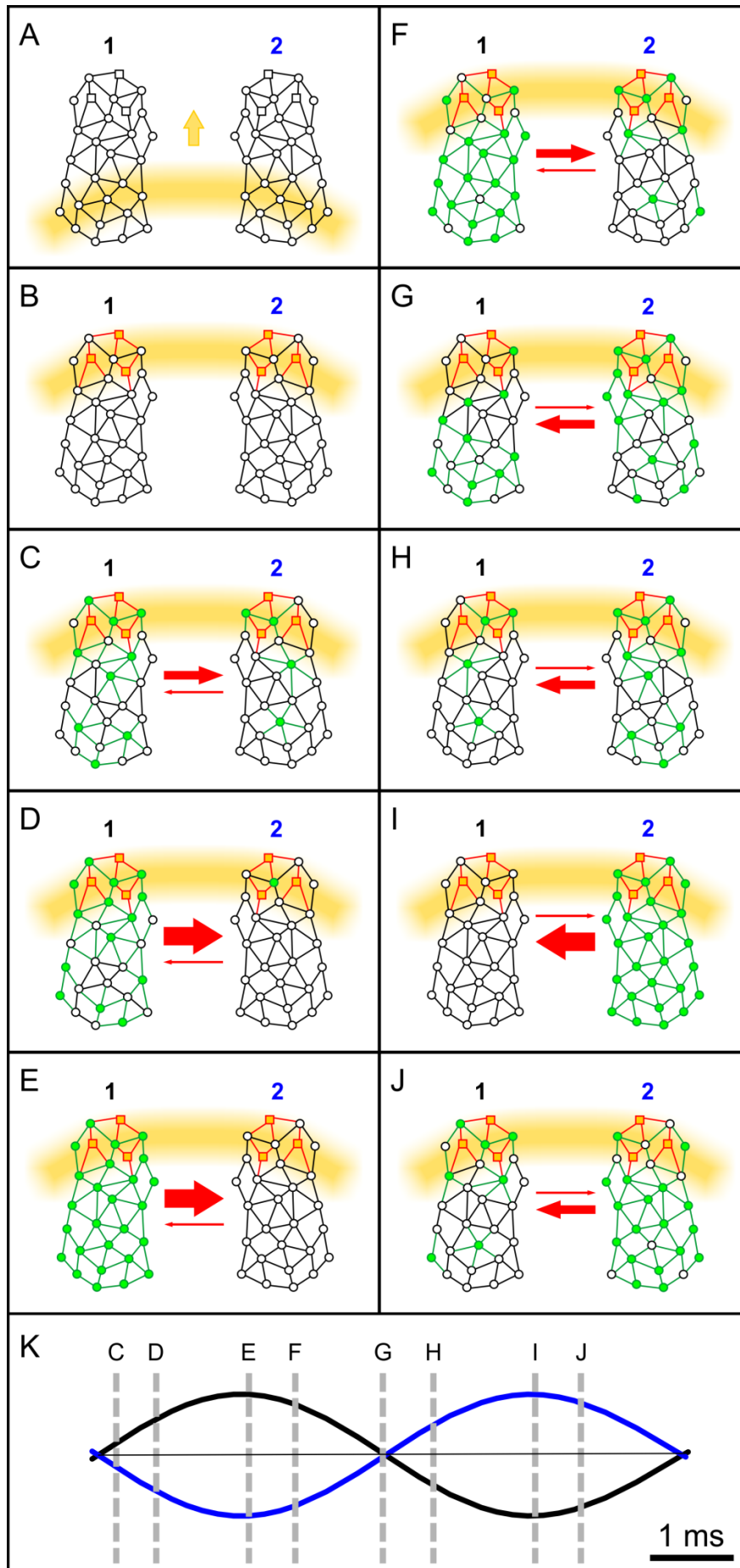
De acuerdo con esta hipótesis, theta actuaría como un “sincronizador de baja precisión” -decenas de milisegundos-, que garantizaría la activación de los elementos que componen el generador primario de alta frecuencia en cada hemisferio, permitiendo la producción de

brotos de alta frecuencia en la misma ventana temporal. Por otra parte, las inhibiciones mediadas por el cuerpo calloso delimitarían en gran medida la ventana de tiempo en que los elementos de cada hemisferio pueden disparar, actuando como un mecanismo “sincronizador de alta precisión” -en torno a 1-2 milisegundos-.

Se sabe que las interacciones de largo alcance entre hemisferios modulan la sincronía en el disparo de las neuronas corticales, mientras que las interacciones locales afectan además a la tasa de disparo (König y col., 1995). Teniendo esto en consideración, la inhibición entre hemisferios podría estar actuando como una barrera temporal sobre los elementos contralaterales, refinando su sincronía de disparo y, por tanto, incrementando la potencia de las oscilaciones de alta frecuencia. En cualquier caso, el hecho de que solo en el ~38% de los brotes de alta frecuencia de un hemisferio coincidiera con los del otro hemisferio, sugiere que la naturaleza oscilatoria de las altas frecuencias debe ser una propiedad inherente a la circuitería local, cuyo grado de organización depende de las proyecciones inhibitorias entre hemisferios.

Figura 5-1. Hipótesis de funcionamiento del mecanismo generador de las oscilaciones de alta frecuencia.

A. El pico de amplitud de la onda theta (banda amarilla), se propaga en dirección postero-anterior (flecha amarilla), sin afectar a los circuitos corticales de alta frecuencia en cada hemisferio (1 y 2). B. Al llegar a la región rostral de cada hemisferio, la onda theta activa a los elementos del generador primario de cada corteza (cuadrados de color en 1 y 2). C. Los elementos del generador secundario en cada hemisferio (círculos), se activan como consecuencia de la actividad del generador primario y ambos hemisferios comienzan a inhibirse mutuamente (flechas rojas). D. El mayor número de elementos activos en el circuito 1, genera una mayor inhibición sobre el circuito 2, que produce su silenciamiento y facilita el reclutamiento de más elementos secundarios en el circuito 1. Tras la activación completa de la red del hemisferio 1 (E), el silenciamiento progresivo de sus elementos (círculos blancos en F1 a I1), reduce la inhibición sobre el hemisferio 2, cuyos elementos comienzan a activarse (círculos verdes en F2 a I2), facilitando el silenciamiento del hemisferio 1. J. El silenciamiento de elementos en 2, facilita la reactivación de elementos en 1, dando comienzo a un nuevo ciclo de alta frecuencia. K. Representación de un ciclo de alta frecuencia registrado en una localización del hemisferio 1 (trazo negro) y el hemisferio 2 (trazo azul), sobre el que se marcan los instantes de ocurrencia de las fases representadas entre C y J. Nótese la representación estacionaria de la onda theta entre B y J, como resultado de una velocidad de propagación muy inferior a la escala temporal en que ocurren los fenómenos de alta frecuencia representados en esos recuadros.



5.3.7 Función de la oscilación de alta frecuencia durante la fase REM

Entre las múltiples funciones que se le atribuyen al sueño, su papel en los procesos de memoria y consolidación del aprendizaje ha sido el más intensamente estudiado. Las numerosas pruebas experimentales en humanos y otros animales, apuntan al papel activo que el sueño juega en estos procesos (Rasch y Born, 2013), y han hecho, de esta función, la más ampliamente aceptada.

Actualmente, se cree que la potenciación a largo plazo (LTP), constituye el principal mecanismo de consolidación sináptica, clave en los procesos de aprendizaje. Se especula que durante la fase NREM, se produce la reactivación de los nuevos recuerdos que se adquirieron durante la vigilia, estimulando su redistribución en la corteza. Así mismo, durante NREM, se comienza el proceso de LTP, que se continua de forma más intensa durante la fase REM, produciendo la consolidación de los recuerdos (Diekelmann y Born, 2010; Rasch y Born, 2013). Se piensa que durante la fase NREM, la LTP se encuentra restringida a los periodos de ocurrencia de los husos tálamo-corticales y los ripples de hipocampo (King y col., 1999; Rosanova y Ulrich, 2005), los cuales están temporalmente acoplados (Sirota y col., 2003; Siapas y Wilson, 1998; Wierzynski y col., 2009). A su vez, la ocurrencia de estas dos actividades fásicas, se ve modulada por la fase de la onda lenta cortical, de carácter tónico, de manera que su actividad se incrementa durante la fase de despolarización de la onda lenta (Sirota y col., 2003; Battaglia y col., 2004; Isomura y col., 2006; Clemens y col., 2007; Mölle y col., 2002, 2006 y 2009; Peyrache y col., 2011). Se ha sugerido que esta relación temporal, permite una sintonización entre la corteza y el hipocampo, clave para la transferencia de información entre ambas estructuras y la producción de cambios en las sinapsis corticales (Buzsáki, 1998; Sirota y col., 2003; Marshall y Born, 2007; Mölle y col., 2009).

La coordinación entre el ritmo theta de hipocampo y los brotes de alta frecuencia corticales durante la fase REM, se asemeja a la relación existente entre la onda lenta cortical y las actividades fásicas subcorticales durante la fase NREM. Por otra parte, la producción de LTP durante la fase REM, es un fenómeno bien establecido en el hipocampo (Axmacher y col., 2006), donde se ha demostrado que la estimulación a 200 Hz en la región CA1, *in vivo*, produce LTP al ser realizada en la fase positiva del ritmo theta (Hölscher y col., 1997), recreando la organización natural de los brotes de altas frecuencias en el hipocampo y la corteza (Scheffzük y col., 2011; Tort y col., 2013). En conjunto, los resultados de la presente tesis, apoyarían la posible implicación de la actividad de alta frecuencia en los fenómenos de memoria y

aprendizaje (Tort y col., 2013), y su papel la consolidación sináptica en la corteza, durante la fase REM.

6 CONCLUSIONES

6 CONCLUSIONES

1. Se ha observado que, durante la fase REM, ocurren simultáneamente una convergencia e infraducción mantenida de los ojos, y movimientos oculares rápidos similares a los descritos en otras especies, lo que implica que los movimientos oculares durante esta fase están muy conservados a lo largo de la evolución.
2. Se ha desarrollado un sistema portátil que permite registrar los componentes tónicos y fásicos de los movimientos oculares sin tener que inmovilizar al animal y que facilita, por tanto, el registro de actividad extraocular durante el sueño.
3. Se ha demostrado, a nivel de EEG, la existencia de una actividad de alta frecuencia, en la banda entre 110 y 160 Hz, en la corteza somatosensorial y motora, y que constituye el principal componente fásico del EEG durante la fase REM.
4. Se ha establecido que la actividad de alta frecuencia está modulada por la fase de theta. Sin embargo, como theta ocurre antes a niveles caudales de la corteza y se propaga radialmente, mientras que la de alta frecuencia se origina a nivel rostral y se propaga caudalmente, la actividad de alta frecuencia solo puede ser modulada por theta a nivel rostral.
5. La baja coincidencia de los brotes de alta frecuencia entre hemisferios y la oposición de fase, ciclo a ciclo, cuando coinciden, implica que la proyección entre hemisferios deber ser de tipo inhibitorio, de modo que cuando un hemisferio se impone al otro, lo silencia completamente, pero si el silenciamiento es parcial, el otro hemisferio se activa en oposición de fase.
6. Se ha demostrado que la actividad de alta frecuencia requiere la integridad del cuerpo calloso, pero es independiente de la del hipocampo, amígdala central, núcleo del lecho de la estría terminal y núcleo parafascicular talámico.
7. La desaparición de la actividad de alta frecuencia por la lesión del cuerpo calloso implica que la inhibición entre hemisferios ocurre a través de esta estructura y que ésta inhibición es necesaria para que la actividad de alta frecuencia se genere o se organice.
8. Se ha demostrado que las actividades durante el periodo de transición a la fase REM siguen una secuencia temporal precisa, en la que los fenómenos corticales preceden a los motores, independientemente de su carácter tónico o fásico.
9. Se ha mostrado que el desarrollo temporal de la actividad de alta frecuencia, durante el periodo de transición a REM, representa fielmente la duración de la transición.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achermann P. y Borbély A.A. (1998). Coherence analysis of the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*. 85(4):1195-1208. PMID: [9681957](#).
- Achermann P. y Borbély A.A. (2003). Mathematical models of sleep regulation. *Front Biosci*. 8:683-693. PMID: [12700054](#).
- Agarwal G., Stevenson I.H., Berényi A., Mizuseki K., Buzsáki G. y Sommer F.T. (2014). Spatially distributed local fields in the hippocampus encode rat position. *Science*. 344(6184):626-30. PMID: [24812401](#).
- Alonso A. y García-Austt E. (1987a). Neuronal sources of theta rhythm in the entorhinal cortex of the rat. I. Laminar distribution of theta field potentials. *Exp Brain Res*. 67(3):493-501. PMID: [3653311](#).
- Alonso A. y García-Austt E. (1987b). Neuronal sources of theta rhythm in the entorhinal cortex of the rat. II. Phase relations between unit discharges and theta field potentials. *Exp Brain Res*. 67(3):502-509. PMID: [3653312](#).
- Anaclet C., Pedersen N.P., Fuller P.M. y Lu J. (2010). Brainstem circuitry regulating phasic activation of trigeminal motoneurons during REM sleep. *PLoS One*. 5(1):e8788. PMID: [20098748](#).
- Arden G.B. y Kelsey J.H. (1962). Changes produced by light in the standing potential of the human eye. *J Physiol*. 161:189-204. PMID: [13862112](#).
- Asanuma H. y Okuda O. (1962). Effects of transcallosal volleys on pyramidal tract cell activity of cat. *J Neurophysiol*. 25:198-208. PMID: [13862744](#).
- Aserinsky E. y Kleitman N. (1953). Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*. 118(3062):273-274. PMID: [13089671](#).
- Aserinsky E. y Kleitman N. (1955). Two types of ocular motility occurring in sleep. *J Appl Physiol*. 8(1):1-10. PMID: [13242483](#).
- Aserinsky E., Lynch J.A., Mack M.E., Tzankoff S.P. y Hurn E. (1985). Comparison of eye motion in wakefulness and REM sleep. *Psychophysiology*. 22(1):1-10. PMID: [3975313](#).
- Aston-Jones G. y Bloom F.E. (1981). Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci*. 1(8):876-886. PMID: [7346592](#).
- Axmacher N., Mormann F., Fernández G., Elger C.E. y Fell J. (2006). Memory formation by neuronal synchronization. *Brain Res Rev*. 52(1):170-182. PMID: [16545463](#).
- Ayers N.A., Kapás L. y Krueger J.M. (1996). Circadian variation of nitric oxide synthase activity and cytosolic protein levels in rat brain. *Brain Res*. 707(1):127-130. PMID: [8866722](#).
- Baghdoyan H.A. (1997). Location and quantification of muscarinic receptor subtypes in rat pons: implications for REM sleep generation. *Am J Physiol*. 273(3 Pt 2):R896-904. PMID: [9321865](#).
- Baghdoyan H.A., Rodrigo-Angulo M.L., McCarley R.W. y Hobson J.A. (1987). A neuroanatomical gradient in the pontine tegmentum for the cholinergic induction of desynchronized sleep signs. *Brain Res*. 414(2):245-261. PMID: [3620930](#).
- Bahill A.T., Clark M.R. and Stark L. (1975). The main sequence, a tool for studying human eye movements. *Mathematical Biosciences*. 24, (3-4):191-204. DOI: [10.1016/0025-5564\(75\)90075-9](#).
- Bahramisharif A., van Gerven M.A., Aarnoutse E.J., Mercier M.R., Schwartz T.H., Foxe J.J., Ramsey N.F. y Jensen O. (2013). Propagating neocortical gamma bursts are coordinated by traveling alpha waves. *J Neurosci*. 33(48):18849-18854. PMID: [24285891](#).
- Basheer R., Strecker R.E., Thakkar M.M. y McCarley R.W. (2004). Adenosine and sleep-wake regulation. *Prog Neurobiol*. 73(6):379-396. PMID: [15313333](#).
- Battaglia F.P., Sutherland G.R. y McNaughton B.L. (2004). Hippocampal sharp wave bursts coincide with neocortical "up-state" transitions. *Learn Mem*. 11(6):697-704. PMID: [15576887](#).
- Becker W. (1989). En C.H. Wurtz y M.E. Goldberg, eds., *The neurobiology of saccadic eye movements*. pp. 13-67. Amsterdam: Elsevier.

- Belluscio M.A., Mizuseki K., Schmidt R., Kempter R. y Buzsáki G. (2012). Cross-frequency phase-phase coupling between θ and γ oscillations in the hippocampus. *J Neurosci.* 32(2):423-435. PMID: [22238079](#).
- Benington J.H., Kodali S.K. y Heller H.C. (1994). Scoring transitions to REM sleep in rats based on the EEG phenomena of pre-REM sleep: an improved analysis of sleep structure. *Sleep.* 17(1):28-36. PMID: [8191200](#).
- Berger H. (1929). Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Archiv f. Psychiatrie.* 87: 527-570. DOI: [10.1007/BF01797193](#).
- Berger R.J. y Oswald I. (1962). Eye movements during active and passive dreams. *Science.* 137(3530):601. PMID: [13867678](#).
- Bizzi E., Pompeiano O. y Somogyi I. (1964). Vestibular nuclei: activity of single neurons during natural sleep and wakefulness. *Science.* 145(3630):414-415. PMID: [14172612](#).
- Blake H., Gerard R.W. y Kleitman N. (1939). Factors influencing brain potentials during sleep. *J Neurophysiol.* 2(1):48-60.
- Blanco-Centurión C., Gerashchenko D. y Shiromani P.J. (2007). Effects of saporin-induced lesions of three arousal populations on daily levels of sleep and wake. *J Neurosci.* 27(51):14041-14048. PMID: [18094243](#).
- Bland B.H., Konopacki J., Kirk I.J., Oddie S.D. y Dickson C.T. (1995). Discharge patterns of hippocampal theta-related cells in the caudal diencephalon of the urethan-anesthetized rat. *J Neurophysiol.* 74(1):322-333. PMID: [7472334](#).
- Blinowska K.J. y Zygierevicz J. (2012). Practical biomedical signal analysis using MATLAB®. pp. 75-99. Boca Raton: CRC Press.
- Boghen D., Troost B.T., Daroff R.B., Dell'Osso L.F. y Birkett J.E. (1974). Velocity characteristics of normal human saccades. *Invest Ophthalmol.* 13(8):619-623. PMID: [4841869](#).
- Boissard R., Fort P., Gervasoni D., Barbagli B. y Luppi P.H. (2003). Localization of the GABAergic and non-GABAergic neurons projecting to the sublaterodorsal nucleus and potentially gating paradoxical sleep onset. *Eur J Neurosci.* 18(6):1627-1639. PMID: [14511341](#).
- Boissard R., Gervasoni D., Schmidt M.H., Barbagli B., Fort P. y Luppi P.H. (2002). The rat ponto-medullary network responsible for paradoxical sleep onset and maintenance: a combined microinjection and functional neuroanatomical study. *Eur J Neurosci.* 16(10):1959-1973. PMID: [12453060](#).
- Bon L., Corazza R. e Inchingolo P. (1980). Eye movements during the waking-sleep cycle of the encéphale isolé semichronic cat preparation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 48(3):327-340. PMID: [6153352](#).
- Borbély A.A., Baumann F., Brandeis D., Strauch I. y Lehmann D. (1981). Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 51(5):483-495. PMID: [6165548](#).
- Borbély A.A., y Tobler, I. (1985). Homeostatic and circadian principles in sleep regulation in the rat. En D.J. Mcginty, Edt. *Brain Mechanisms Of Sleep.* pp. 35-44. New York: Raven Press.
- Börgers C., Epstein S. y Kopell N.J. (2005). Background gamma rhythmicity and attention in cortical local circuits: a computational study. *Proc Natl Acad Sci USA.* 102(19):7002-7007. PMID: [15870189](#).
- Borhegyi Z., Varga V., Szilágyi N., Fabo D. y Freund T.F. (2004). Phase segregation of medial septal GABAergic neurons during hippocampal theta activity. *J Neurosci.* 24(39):8470-8479. PMID: [15456820](#).
- Borst J.G., Leung L.W. y MacFabe D.F. (1987). Electrical activity of the cingulate cortex. II. Cholinergic modulation. *Brain Res.* 407(1):81-93. PMID: [3580858](#).
- Bragin A., Jandó G., Nádasdy Z., Hetke J., Wise K. y Buzsáki G. (1995). Gamma (40-100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J Neurosci.* 15(1 Pt 1):47-60. PMID: [7823151](#).
- Brankač J., Scheffzük C., Kukushka V.I., Vyssotski A.L., Tort A.B. y Draguhn A. (2012). *J Sleep Res.* 21(6):630-633. PMID: [22812730](#).
- Bremen P., Van der Willigen R.F., Van Wanrooij M.M., Schaling D.F., Martens M.B., Van Grootel T.J. y van Opstal A.J. (2010). Applying double-magnetic induction to measure head-unrestrained gaze shifts: calibration and validation in monkey. *Biol Cybern.* 103(6):415-432. PMID: [21082199](#).

- Bremer F. (1935a). Cerveau "isolé" et physiologie du sommeil. *C R Soc Biol (Paris)*. 118:1235-1241.
- Bremer F. (1935b). Quelques propriétés de l'action électrique du cortex cérébral isolé. *C R Soc Biol (Paris)*. 118:1241-1244.
- Brodie S.M., Villamayor A., Borich M.R. y Boyd L.A. (2014). Exploring the specific time course of interhemispheric inhibition between the human primary sensory cortices. *J Neurophysiol*. 112(6):1470-1476. PMID: [24944212](#).
- Brown R.E., Basheer R., McKenna J.T., Strecker R.E. y McCarley R.W. (2012). Control of sleep and wakefulness. *Physiol Rev*. 92(3):1087-1187. PMID: [22811426](#).
- Bullock T.H. y McClune M.C. (1989). Lateral coherence of the electrocorticogram: a new measure of brain synchrony. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 73(6):479-498. PMID: [2480883](#).
- Bullock T.H., McClune M.C., Achimowicz J.Z., Iragui-Madoz V.J., Duckrow R.B. y Spencer S.S. (1995). EEG coherence has structure in the millimeter domain: subdural and hippocampal recordings from epileptic patients. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 95(3):161-177. PMID: [7555907](#).
- Büttner U., Büttner-Ennever J.A. y Henn V. (1977). Vertical eye movement related unit activity in the rostral mesencephalic reticular formation of the alert monkey. *Brain Res*. 130(2):239-252. PMID: [406969](#).
- Büttner-Ennever J.A. (2005). Neuroanatomy of the oculomotor system. Amsterdam: Elsevier.
- Buzsáki G. (1986). Hippocampal sharp waves: their origin and significance. *Brain Res*. 398(2):242-252. PMID: [3026567](#).
- Buzsáki G. (1998). Memory consolidation during sleep: a neurophysiological perspective. *J Sleep Res*. 7 Suppl 1:17-23. PMID: [9682189](#).
- Buzsáki G. y Moser E.I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nat Neurosci*. 16(2):130-138. PMID: [23354386](#).
- Buzsáki G., Leung L.W. y Vanderwolf C.H. (1983). Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Res*. 287(2):139-171. PMID: [6357356](#).
- Cannon S.C. y Robinson D.A. (1987). Loss of the neural integrator of the oculomotor system from brain stem lesions in monkey. *J Neurophysiol*. 57(5):1383-1409. PMID: [3585473](#).
- Canolty R.T., Edwards E., Dalal S.S., Soltani M., Nagarajan S.S., Kirsch H.E., Berger M.S., Barbaro N.M. y Knight R.T. (2006). High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science*. 313(5793):1626-1628. PMID: [16973878](#).
- Capitani P., Cerri M., Amici R., Baracchi F., Jones C.A., Luppi M., Perez E., Parmeggiani P.L. y Zamboni G. (2005). Changes in EEG activity and hypothalamic temperature as indices for non-REM sleep to REM sleep transitions. *Neurosci Lett*. 383(1-2):182-7. PMID: [15936533](#).
- Cardin J.A., Carlén M., Meletis K., Knoblich U., Zhang F., Deisseroth K., Tsai L.H. y Moore C.I. (2009). Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature*. 459(7247):663-667. PMID: [19396156](#).
- Carús-Cadavieco M., de Andrés I. (2012). Adenosina y control homeostático del sueño. Acciones en estructuras diana de los circuitos de vigilia y sueño. *Rev Neurol*. 55(7):413-420. PMID: [23011860](#).
- Castro S., Cavelli M., Vollono P., Chase M.H., Falconi A. y Torterolo P. (2014). Inter-hemispheric coherence of neocortical gamma oscillations during sleep and wakefulness. *Neurosci Lett*. 578:197-202. PMID: [24993304](#).
- Castro S., Falconi A., Chase M.H. y Torterolo P. (2013). Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. *Eur J Neurosci*. 37(8):1330-1339. PMID: [23406153](#).
- Caton R. (1875). The electric currents of the brain. *The British Medical Journal*. 2(765):278.
- Cavelli M., Castro S., Schwarzkopf N., Chase M.H., Falconi A. y Torterolo P. (2015). Coherent neocortical gamma oscillations decrease during REM sleep in the rat. *Behav Brain Res*. 281:318-325. PMID: [25557796](#).
- Cespuglio R., Calvo J.M., Musolino R. y Valatx J.L. (1977). Activité Phasique Chez le Rat. *Physiol Behav*. 19(5):589-596. PMID: [203963](#).
- Chase M.H. (2013). Motor control during sleep and wakefulness: clarifying controversies and resolving paradoxes. *Sleep Med Rev*. 17(4):299-312. PMID: [23499211](#).

- Chase M.H. y Morales F.R. (1983). Subthreshold excitatory activity and motoneuron discharge during REM periods of active sleep. *Science*. 221(4616):1195-1198. PMID: [6310749](#).
- Chase M.H. y Morales F.R. (2005). En M.H. Kryger, T. Roth, y W.C. Dement, eds., *Principles and Practice of Sleep Medicine*. pp. 154-168. Amsterdam: Elsevier.
- Chase M.H., Chandler S.H. y Nakamura Y. (1980). Intracellular determination of membrane potential of trigeminal motoneurons during sleep and wakefulness. *J Neurophysiol*. 44(2):349-358. PMID: [7411192](#).
- Chase M.H., Soja P.J. y Morales F.R. (1989). Evidence that glycine mediates the postsynaptic potentials that inhibit lumbar motoneurons during the atonia of active sleep. *J Neurosci*. 9(3):743-751. PMID: [2926479](#).
- Chen B. y May P.J. (2002). Premotor circuits controlling eyelid movements in conjunction with vertical saccades in the cat: I. The rostral interstitial nucleus of the medial longitudinal fasciculus. *J Comp Neurol*. 450(2):183-202. PMID: [12124762](#).
- Chen B. y May P.J. (2007). Premotor circuits controlling eyelid movements in conjunction with vertical saccades in the cat: II. interstitial nucleus of Cajal. *J Comp Neurol*. 500(4):676-92. PMID: [17154251](#).
- Cheron G. y Godaux E. (1987). Disabling of the oculomotor neural integrator by kainic acid injections in the prepositus-vestibular complex of the cat. *J Physiol*. 394:267-290. PMID: [3443967](#).
- Chou T.C., Bjorkum A.A., Gaus S.E., Lu J., Scammell T.E. y Saper C.B. (2002). Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *J Neurosci*. 22(3):977-990. PMID: [11826126](#).
- Chou T.C., Scammell T.E., Gooley J.J., Gaus S.E., Saper C.B. y Lu J. (2003). Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. *J Neurosci*. 23(33):10691-10702. PMID: [14627654](#).
- Chrobak J.J. y Buzsáki G. (1998a). Gamma oscillations in the entorhinal cortex of the freely behaving rat. *J Neurosci*. 18(1):388-398. PMID: [9412515](#).
- Chrobak J.J. y Buzsáki G. (1998b). Operational dynamics in the hippocampal-entorhinal axis. *Neurosci Biobehav Rev*. 22(2):303-310. PMID: [9579320](#).
- Cissé Y., Grenier F., Timofeev I. y Steriade M. (2003). Electrophysiological properties and input-output organization of callosal neurons in cat association cortex. *J Neurophysiol*. 89(3):1402-1413. PMID: [12626619](#).
- Clemens Z., Mölle M., Eross L., Barsi P., Halász P. y Born J. (2007). Temporal coupling of parahippocampal ripples, sleep spindles and slow oscillations in humans. *Brain*. 130(11):2868-2678. PMID: [17615093](#).
- Clément O., Sapin E., Béroud A., Fort P. y Luppi P.H. (2011). Evidence that neurons of the sublaterodorsal tegmental nucleus triggering paradoxical (REM) sleep are glutamatergic. *Sleep*. 34(4):419-423. PMID: [21461384](#).
- Colgin L.L., Denninger T., Fyhn M., Hafting T., Bonnevie T., Jensen O, Moser M.B. y Moser E.I. (2009). Frequency of gamma oscillations routes flow of information in the hippocampus. *Nature*. 462(7271):353-357. PMID: [19924214](#).
- Colgin. L.L., (2013). Mechanisms and functions of theta rhythms. *Annu Rev Neurosci*. 36:295-312. PMID: [23724998](#).
- Colgin. L.L., (2016). Rhythms of the hippocampal network. *Nat Rev Neurosci*. 17(4):239-249. PMID: [26961163](#).
- Collerwijn H. (1977). Eye- and head movements in freely moving rabbits. *J Physiol*. 266(2):471-498. PMID: [857007](#).
- Connors B.W. y Gutnick M.J. (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci*. 13(3):99-104. PMID: [1691879](#).
- Corsi-Cabrera M., Pérez-Garci E., Del Rio-Portilla Y., Ugalde E. y Guevara M.A. (2011). EEG bands during wakefulness, slow-wave, and paradoxical sleep as a result of principal component analysis in the rat. *Sleep*. 24(4):374-380. PMID: [11403521](#).
- Crawford J.D. y Vilis T. (1992). Symmetry of oculomotor burst neuron coordinates about Listing's plane. *J Neurophysiol*. 68(2):432-448. PMID: [1527568](#).
- Cynader M. (1979). Interocular alignment following visual deprivation in the cat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 18(7):726-741. PMID: [447471](#).

- Dahlström A. y Fuxe K. (1964). Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia*. 20(7):398-399. PMID: [5856530](#).
- Datta S. (1997). Cellular basis of pontine ponto-geniculo-occipital wave generation and modulation. *Cell Mol Neurobiol*. 17(3):341-365. PMID: [9187490](#).
- Datta S. y Hobson J.A. (1994). Neuronal activity in the caudolateral peribrachial pons: relationship to PGO waves and rapid eye movements. *J Neurophysiol*. 71(1):95-109. PMID: [8158244](#).
- De La Cruz R.R., Escudero M. y Delgado-García J.M. (1989). Behaviour of medial rectus motoneurons in the alert cat. *Eur J Neurosci*. 1(3):288-295. PMID: [12106159](#).
- Delgado-García J.M., del Pozo F. y Baker R. (1986). Behavior of neurons in the abducens nucleus of the alert cat--I. Motoneurons. *Neuroscience*. 17(4):929-952. PMID: [3487043](#).
- Delgado-García J.M., Evinger C., Escudero M. y Baker R. (1990). Behavior of accessory abducens and abducens motoneurons during eye retraction and rotation in the alert cat. *J Neurophysiol*. 64(2):413-422. PMID: [2213125](#).
- Delgado-García J.M., Vidal P.P., Gómez C. y Berthoz A. (1989). A neurophysiological study of prepositus hypoglossi neurons projecting to oculomotor and preoculomotor nuclei in the alert cat. *Neuroscience*. 29(2):291-307. PMID: [2725860](#).
- Dement W. C. (1969). The biological role of REM sleep (circa 1968). En A. Kales, ed., *Sleep: Physiology and Pathology*. pp. 245-265. Philadelphia: Lippincott.
- Dement W.C. (1958). The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 10(2):291-296. PMID: [13548075](#).
- Dement W.C. y Kleitman N. (1957a). The relation of eye movements during sleep to dream activity: an objective method for the study of dreaming. *J Exp Psychol*. 53(5):339-346. PMID: [13428941](#).
- Dement W.C. y Kleitman N. (1957b). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 9(4):673-90. PMID: [13480240](#).
- Dement W.C. y Wolpert E.A. (1958). The relation of eye movements, body motility, and external stimuli to dream content. *J Exp Psychol*. 55(6):543-553. PMID: [13563767](#).
- De'sperati C., Tempia F., Harvey R. y Strata P. (1994). Vergence compensation during binocularly- and monocularly-evoked horizontal optokinetic nystagmus in the pigmented rat. *Vision Res*. 34(24):3335-3345. PMID: [7863617](#).
- Deurveilher S. y Semba K. (2005). Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to major arousal-promoting cell groups in rat: implications for the circadian control of behavioural state. *Neuroscience*. 130(1):165-183. PMID: [15561433](#).
- Deurveilher S., Burns J. y Semba K. (2002). Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to the ventrolateral preoptic nucleus: a dual tract-tracing study in rat. *Eur J Neurosci*. 16(7):1195-1213. PMID: [12405980](#).
- Diekelmann S. y Born J. (2010). The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci*. 11(2):114-126. PMID: [20046194](#).
- Dijk D.J., Brunner D.P., Beersma D.G. y Borbély A.A. (1990). Electroencephalogram power density and slow wave sleep as a function of prior waking and circadian phase. *Sleep*. 13(5):430-440. PMID: [2287855](#).
- Dodge R. (1903). Five types of eye movement in the horizontal meridian plane of the field of regard. *Am J Physiol*. 8:307-329.
- el Mansari M., Sakai K. y Jouvet M. (1989). Unitary characteristics of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Exp Brain Res*. 76(3):519-529. PMID: [2551709](#).
- Elazar Z. y Adey W.R. (1967). Spectral analysis of low frequency components in the electrical activity of the hippocampus during learning. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 23(3):225-240. PMID: [4167921](#).
- Escudero M. y Delgado-García J.M. (1988). Behavior of reticular, vestibular and prepositus neurons terminating in the abducens nucleus of the alert cat. *Exp Brain Res*. 71(1):218-222. PMID: [3416954](#).
- Escudero M. y Márquez-Ruiz J. (2008). Tonic inhibition and ponto-geniculo-occipital-related activities shape abducens motoneuron discharge during REM sleep. *J Physiol*. 586(14):3479-3491. PMID: [18499728](#).

- Escudero M. y Vidal P.P. (1996). A quantitative study of electroencephalography, eye movements and neck electromyography characterizing the sleep-wake cycle of the guinea-pig. *Eur J Neurosci.* 8(3):572-580. PMID: [8963449](#).
- Escudero M., de la Cruz R.R. y Delgado-García J.M. (1992). A physiological study of vestibular and prepositus hypoglossi neurones projecting to the abducens nucleus in the alert cat. *J Physiol.* 458:539-560. PMID: [1302278](#).
- Ezure K. y Graf W. (1984). A quantitative analysis of the spatial organization of the vestibulo-ocular reflexes in lateral- and frontal-eyed animals--I. Orientation of semicircular canals and extraocular muscles. *Neuroscience.* 12(1):85-93. PMID: [6611517](#).
- Ferbert A., Priori A., Rothwell J.C., Day B.L., Colebatch J.G. y Marsden C.D. (1992). Interhemispheric inhibition of the human motor cortex. *J Physiol.* 453:525-546. PMID: [1464843](#).
- Ferri R., Cosentino F.I., Elia M., Musumeci S.A., Marinig R. y Bergonzi P. (2001). Relationship between Delta, Sigma, Beta, and Gamma EEG bands at REM sleep onset and REM sleep end. *Clin Neurophysiol.* 112(11):2046-2052. PMID: [11682342](#).
- Fisahn A., Pike F.G., Buhl E.H. y Paulsen O. (1998). Cholinergic induction of network oscillations at 40 Hz in the hippocampus in vitro. *Nature.* 394(6689):186-189. PMID: [9671302](#).
- Fishbein W. y Gutwein B.M. (1977). Paradoxical sleep and memory storage processes. *Behav Biol.* 19(4):425-464. PMID: [16586](#).
- Fries P., Nikolić D. y Singer W. (2007). The gamma cycle. *Trends Neurosci.* 30(7):309-316. PMID: [17555828](#).
- Fuchs A.F. y Luschei E.S. (1970). Firing patterns of abducens neurons of alert monkeys in relationship to horizontal eye movement. *J Neurophysiol.* 33(3):382-392. PMID: [4985724](#).
- Fuchs A.F. y Robinson D.A. (1966). A method for measuring horizontal and vertical eye movement chronically in the monkey. *J Appl Physiol.* 21(3):1068-1070. PMID: [4958032](#).
- Fuchs A.F. y Ron S. (1968). An analysis of rapid eye movements of sleep in the monkey. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 25(3):244-251. PMID: [4176927](#).
- Fukushima K. (1987). The interstitial nucleus of Cajal and its role in the control of movements of head and eyes. *Prog Neurobiol.* 29(2):107-192. PMID: [3108957](#).
- Fukushima K. y Fukushima J. (1990). Activity of eye-movement-related neurons in the region of the interstitial nucleus of Cajal during sleep. *Neurosci Res.* 9(2):126-139. PMID: [2177532](#).
- Fukushima K. y Fukushima J. (1992). The interstitial nucleus of Cajal is involved in generating downward fast eye movement in alert cats. *Neurosci Res.* 15(4):299-303. PMID: [1337582](#).
- Fukushima K., Kaneko C.R. y Fuchs A.F. (1992). The neuronal substrate of integration in the oculomotor system. *Prog Neurobiol.* 39(6):609-639. PMID: [1410443](#).
- Fuller J.H. (1980). Linkage of eye and head movements in the alert rabbit. *Brain Res.* 194(1):219-222. PMID: [6966529](#).
- Fuller J.H. (1985). Eye and head movements in the pigmented rat. *Vision Res.* 25(8):1121-1128. PMID: [4071991](#).
- Galarreta M. y Hestrin S. (1999). A network of fast-spiking cells in the neocortex connected by electrical synapses. *Nature.* 402(6757):72-75. PMID: [10573418](#).
- García-Rill E., Kezunovic N., Hyde J., Simon C., Beck P. y Urbano F.J. (2013). Coherence and frequency in the reticular activating system (RAS). *Sleep Med Rev.* 17(3):227-238. PMID: [23044219](#).
- Garzón M., De Andrés I. y Reinoso-Suárez F. (1998). Sleep patterns after carbachol delivery in the ventral oral pontine tegmentum of the cat. *Neuroscience.* 83(4):1137-1144. PMID: [9502252](#).
- Gaus S.E., Strecker R.E., Tate B.A., Parker R.A. y Saper C.B. (2002). Ventrolateral preoptic nucleus contains sleep-active, galaninergic neurons in multiple mammalian species. *Neuroscience.* 115(1):285-294. PMID: [12401341](#).
- Gayet M. (1875). Affection encephalique. *Arch Physiol Norm Pathol.* 7:341:351
- Gerfen C.R. (2004). En: G. Paxinos, ed., The rat nervous system. pp. 455-508. Amsterdam: Elsevier.
- Gibson J.R., Beierlein M. y Connors B.W. (1999). Two networks of electrically coupled inhibitory neurons in neocortex. *Nature.* 402(6757):75-79. PMID: [10573419](#).

- Gilbert P.W. (1947). The origin and development of the extrinsic ocular muscles in the domestic cat. *J Morphol.* 81(2):151-193. PMID: [20258884](#).
- Glenn L.L. y Dement W.C. (1985). Membrane potential and input resistance in alpha motoneurons of hindlimb extensors during isolated and clustered episodes of phasic events in REM sleep. *Brain Res.* 339(1):79-86. PMID: [2992699](#).
- Glenn L.L., Foutz A.S. y Dement W.C. (1978). Membrane potential of spinal motoneurons during natural sleep in cats. *Sleep.* 1(2):199-204. PMID: [227032](#).
- Glin L., Arnaud C., Berracochea D., Galey D., Jaffard R. y Gottesmann C. (1991). *Physiol Behav.* 50(5):951-953. PMID: [1805286](#).
- Gómez-González B., Domínguez-Salazar E., Hurtado-Alvarado G., Esqueda-Leon E., Santana-Miranda R., Rojas-Zamorano J.A. y Velázquez-Moctezuma J. (2012). Role of sleep in the regulation of the immune system and the pituitary hormones. *Ann N Y Acad Sci.* 1261:97-106. PMID: [22823399](#).
- Gong H., McGinty D., Guzman-Marin R., Chew K.T., Stewart D. y Szymusiak R. (2004). Activation of c-fos in GABAergic neurons in the preoptic area during sleep and in response to sleep deprivation. *J Physiol.* 556(3):935-946. PMID: [14966298](#).
- Goodman J.M. (1826). The book of nature. Vol. II. p. 208. London: A. & R. Spottiswoode.
- Gottesmann C. (1973). Intermediate stages of sleep in the rat. *Rev Electroencephalogr Neurophysiol Clin.* 3:65-68. PMID: [4807416](#).
- Gottesmann C. (1992). Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci Biobehav Rev.* 16(1):31-38. PMID: [1553104](#).
- Gottesmann C. (1996). The transition from slow-wave sleep to paradoxical sleep: evolving facts and concepts of the neurophysiological processes underlying the intermediate stage of sleep. *Neurosci Biobehav Rev.* 20(3):367-387. PMID: [8880730](#).
- Gottesmann C. y Gandolfo G. (1986). A massive but short lasting forebrain deafferentation during sleep in the rat and cat. *Arch Ital Biol.* 124(4):257-269. PMID: [3813770](#).
- Gottesmann C., Gandolfo G. y Zernicki B. (1984). Intermediate stage of sleep in the cat. *J Physiol (Paris).* 79(5):365-372. PMID: [6527286](#).
- Goutagny R., Jackson J. y Williams S. (2009). Self-generated theta oscillations in the hippocampus. *Nat Neurosci.* 12(12):1491-1493. PMID: [19881503](#).
- Grantyn A., Grantyn R., Gaunitz U. y Robiné K.P. (1980). Sources of direct excitatory and inhibitory inputs from the medial rhombencephalic tegmentum to lateral and medial rectus motoneurons in the cat. *Exp Brain Res.* 39(1):49-61. PMID: [6247178](#).
- Grastyán E. y Karmos G. (1961). A study of a possible "dreaming" mechanism in the cat. *Acta Physiol Acad Sci Hung.* 20:41-50. PMID: [13707957](#).
- Green J.D. y Arduini A.A. (1954). Hippocampal electrical activity in arousal. *J Neurophysiol.* 17(6):533-557. PMID: [13212425](#).
- Gvilia I., Xu F., McGinty D. y Szymusiak R. (2006). Homeostatic regulation of sleep: a role for preoptic area neurons. *J Neurosci.* 26(37):9426-9433. PMID: [16971526](#).
- Habaguchi T., Takakusaki K., Saitoh K., Sugimoto J. y Sakamoto T. (2002). Medullary reticulospinal tract mediating the generalized motor inhibition in cats: II. Functional organization within the medullary reticular formation with respect to postsynaptic inhibition of forelimb and hindlimb motoneurons. *Neuroscience.* 113(1):65-77. PMID: [12123685](#).
- Hajnik T., Lai Y.Y. y Siegel J.M. (2000). Atonia-related regions in the rodent pons and medulla. *J Neurophysiol.* 84(4):1942-1948. PMID: [11024087](#).
- Hallanger A.E., Levey A.I., Lee H.J., Rye D.B. y Wainer B.H. (1987). The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat. *J Comp Neurol.* 262(1):105-124. PMID: [2442206](#).
- Hanson J. y Lennerstrand G. (1977). Contractile and histochemical properties of the inferior oblique muscle in the rat and in the cat. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 55(1):88-102. PMID: [139074](#).
- Hassani O.K., Lee M.G. y Jones B.E. (2009). Melanin-concentrating hormone neurons discharge in a reciprocal manner to orexin neurons across the sleep-wake cycle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106(7):2418-2422. PMID: [19188611](#).
- Haufler D. y Paré D. (2014). High-frequency oscillations are prominent in the extended amygdala. *J Neurophysiol.* 112(1):110-119. PMID: [24717353](#).

- Henn V., Baloh R.W. y Hepp K. (1984). The sleep-wake transition in the oculomotor system. *Exp Brain Res.* 54(1):166-176. PMID: [6698143](#).
- Hepp K., Henn V., Vilis T. y Cohen B. (1989). Brainstem regions related to saccade generation. *Rev Oculomot Res.* 3:105-212. PMID: [2486322](#).
- Herman J.H., Barker D.R. y Roffwarg H.P. (1983). Similarity of eye movement characteristics in REM sleep and the awake state. *Psychophysiology.* 20(5):537-543. PMID: [6635092](#).
- Hernández-Peón R., Chávez-Ibarra G., Morgane P.J. y Timon-Laria C. (1963). Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. *Exp Neurol.* 8(2):93-111. DOI: [10.1016/0014-4886\(63\)90037-2](#).
- Highstein S.M. y Holstein G.R. (2006). The anatomy of the vestibular nuclei. *Prog Brain Res.* 151:157-203. PMID: [16221589](#).
- Highstein S.M. y McCrea R.A. (1988). The anatomy of the vestibular nuclei. *Rev Oculomot Res.* 2:177-202. PMID: [3153646](#).
- Highstein S.M., Karabelas A., Baker R. y McCrea R.A. (1982). Comparison of the morphology of physiologically identified abducens motor and internuclear neurons in the cat: a light microscopic study employing the intracellular injection of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol.* 208(4):369-381. PMID: [7119166](#).
- Hobson J.A., McCarley R.W. y Wyzinski P.W. (1975). Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science.* 189(4196):55-58. PMID: [1094539](#).
- Hölscher C., Anwyl R. y Rowan M.J. (1997). Stimulation on the positive phase of hippocampal theta rhythm induces long-term potentiation that can be depotentiated by stimulation on the negative phase in area CA1 in vivo. *J Neurosci.* 17(16):6470-6477. PMID: [9236254](#).
- Holstege J.C. y Bongers C.M. (1991). A glycinergic projection from the ventromedial lower brainstem to spinal motoneurons. An ultrastructural double labeling study in rat. *Brain Res.* 566(1-2):308-315. PMID: [1726063](#).
- Horn A.K. y Leigh R.J. (2011). The anatomy and physiology of the ocular motor system. *Handb Clin Neurol.* 102:21-69. PMID: [21601062](#).
- Horn A.K., Büttner-Ennever J.A., Gayde M. y Messoudi A. (2000). Neuroanatomical identification of mesencephalic premotor neurons coordinating eyelid with upgaze in the monkey and man. *J Comp Neurol.* 420(1):19-34. PMID: [10745217](#).
- Hsieh L.T. y Ranganath C. (2014). Frontal midline theta oscillations during working memory maintenance and episodic encoding and retrieval. *Neuroimage.* 85(2):721-729. PMID: [23933041](#).
- Hunt M.J., Matulewicz P., Gottesmann C. y Kasicki S. (2009). State-dependent changes in high-frequency oscillations recorded in the rat nucleus accumbens. *Neuroscience.* 164(2):380-386. PMID: [19716859](#).
- Igusa Y., Sasaki S. y Shimazu H. (1980). Excitatory premotor burst neurons in the cat pontine reticular formation related to the quick phase of vestibular nystagmus. *Brain Res.* 182(2):451-456. PMID: [6965603](#).
- Inoue M., Yamamura K., Nakajima T. y Yamada Y. (1999). Changes in reflex responses of the masseter and digastric muscles during sleep in freely behaving rabbits. *Neurosci Res.* 34(1):37-44. PMID: [10413325](#).
- Inoue S. (1989). Biology of sleep substances. Boca Raton: CRC press.
- Ishimori K. (1909). True cause of sleep – a hypnogenic substance as evidenced in the brain of sleep-deprived animals. *Tokto Igakkai Zasshi.* 23:429.
- Isomura Y., Sirota A., Ozen S., Montgomery S., Mizuseki K., Henze D.A. y Buzsáki G. (2006). Integration and segregation of activity in entorhinal-hippocampal subregions by neocortical slow oscillations. *Neuron.* 52(5):871-882. PMID: [17145507](#).
- Ito K., Yanagihara M., Imon H., Dauphin L. y McCarley R.W. (2002). Intracellular recordings of pontine medial gigantocellular tegmental field neurons in the naturally sleeping cat: behavioral state-related activity and soma size difference in order of recruitment. *Neuroscience.* 114(1):23-37. PMID: [12207952](#).
- Jackson J., Goutagny R. y Williams S. (2011). Fast and slow γ rhythms are intrinsically and independently generated in the subiculum. *J Neurosci.* 31(34):12104-12117. PMID: [21865453](#).
- Jeannerod M., Mouret J. y Jouvet M. (1965). Étude de la motricité oculaire au cours de la phase paradoxale du sommeil chez le chat.

- Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 18:554-566. PMID: [14296834](#).
- Jin X., Shearman L.P., Weaver D.R., Zylka M.J., de Vries G.J. y Reppert S.M. (1999). A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell.* 96(1):57-68. PMID: [9989497](#).
- Jing W., Wang Y., Fang G., Chen M., Xue M., Guo D., Yao D. y Xia Y. (2016). EEG Bands of Wakeful Rest, Slow-Wave and Rapid-Eye-Movement Sleep at Different Brain Areas in Rats. *Front Comput Neurosci.* 10:79. PMID: [27536231](#).
- John J., Wu M.F., Boehmer L.N. y Siegel J.M. (2004). Cataplexy-active neurons in the hypothalamus: implications for the role of histamine in sleep and waking behavior. *Neuron.* 42(4):619-634. PMID: [15157423](#).
- Johnson L., Lubin A., Naitoh P., Nute C. y Austin M. (1969). Spectral analysis of the EEG of dominant and non-dominant alpha subjects during waking and sleeping. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 26(4):361-370. PMID: [4183557](#).
- Jones B.E. (2003). Arousal systems. *Front Biosci.* 8:s438-51. PMID: [12700104](#).
- Jones B.E. (2005). From waking to sleeping: neuronal and chemical substrates. *Trends Pharmacol Sci.* 26(11):578-586. PMID: [16183137](#).
- Jouvet M. (1962). Research on the neural structures and responsible mechanisms in different phases of physiological sleep. *Arch Ital Biol.* 100:125-206. PMID: [14452612](#).
- Jouvet M., Michel F. y Courjon J. (1959). Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *C R Seances Soc Biol Fil.* 153:1024-1028. PMID: [14408003](#).
- Jouvet-Mounier D. y Astic L. (1966). Etude du sommeil chez le cobaye adulte et nouveau-ne. *C R Seances Soc Biol Fil.* 160:1453-1457. PMID: [4225206](#).
- Kalinchuk A.V., Stenberg D., Rosenberg P.A. y Porkka-Heiskanen T. (2006). Inducible and neuronal nitric oxide synthases (NOS) have complementary roles in recovery sleep induction. *Eur J Neurosci.* 24(5):1443-1456. PMID: [16987226](#).
- Karashima A., Nakao M., Honda K., Iwasaki N., Katayama N. y Yamamoto M. (2004). Theta wave amplitude and frequency are differentially correlated with pontine waves and rapid eye movements during REM sleep in rats. *Neurosci Res.* 50(3):283-239. PMID: [15488291](#).
- Karashima A., Nakao M., Katayama N. y Honda K. (2005). Instantaneous acceleration and amplification of hippocampal theta wave coincident with phasic pontine activities during REM sleep. *Brain Res.* 1051(1-2):50-56. PMID: [15982642](#).
- Karlsson K.A., Gall A.J., Mohns E.J., Seelke A.M. y Blumberg M.S. (2005). The neural substrates of infant sleep in rats. *PLoS Biol.* 3(5):e143. PMID: [15826218](#).
- Kato T., Masuda Y., Kanayama H. y Morimoto T. (2007). Muscle activities are differently modulated between masseter and neck muscle during sleep-wake cycles in guinea pigs. *Neurosci Res.* 58(3):265-271. PMID: [17481762](#).
- Kezunovic N., Hyde J., Simon C., Urbano F.J., Williams D.K. y Garcia-Rill E. (2012). Gamma band activity in the developing parafascicular nucleus. *J Neurophysiol.* 107(3):772-784. PMID: [22090455](#).
- King C., Henze D.A., Leinekugel X. y Buzsáki G. (1999). Hebbian modification of a hippocampal population pattern in the rat. *J Physiol.* 521(1):159-167. PMID: [10562342](#).
- Kirk I.J. y McNaughton N. (1991). Supramammillary cell firing and hippocampal rhythmical slow activity. *Neuroreport.* 2(11):723-725. PMID: [1810464](#).
- Kirk I.J., Oddie S.D., Konopacki J. y Bland B.H. (1996). Evidence for differential control of posterior hypothalamic, supramammillary, and medial mammillary theta-related cellular discharge by ascending and descending pathways. *J Neurosci.* 16(17):5547-5554. PMID: [8757266](#).
- Kirov R. y Moyanova S. (2002). Distinct sleep-wake stages in rats depend differentially on age. *Neurosci Lett.* 322(2):134-136. PMID: [11958861](#).
- Ko E.M., Estabrooke I.V., McCarthy M. y Scammell T.E. (2003). Wake-related activity of tuberomammillary neurons in rats. *Brain Res.* 992(2):220-226. PMID: [14625060](#).
- Kocsis B. y Vertes R.P. (1994). Characterization of neurons of the supramammillary nucleus and mammillary body that discharge rhythmically with the hippocampal theta rhythm in the rat. *J Neurosci.* 14(11 Pt 2):7040-7052. PMID: [7965097](#).

- Kocsis B., Varga V., Dahan L. y Sik A. (2006). Serotonergic neuron diversity: identification of raphe neurons with discharges time-locked to the hippocampal theta rhythm. *Proc Natl Acad Sci USA*. 103(4):1059-1064. PMID: [16418294](#).
- Koeda T., Knyazeva M., Njiokiktjien C., Jonkman E.J., De Sonnevile L. y Vildavsky V. (1995). The EEG in acallosal children. Coherence values in the resting state: left hemisphere compensatory mechanism? *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 95(6):397-407. PMID: [8536568](#).
- Kohlmeier K.A., López-Rodríguez F., Liu R.H., Morales F.R. y Chase M.H. (1996). State-dependent phenomena in cat masseter motoneurons. *Brain Res*. 722(1-2):30-38. PMID: [8813347](#).
- König P., Engel A.K. y Singer W. (1995). Relation between oscillatory activity and long-range synchronization in cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 92(1):290-294. PMID: [7816836](#).
- Kramis R., Vanderwolf C.H. y Bland B.H. (1975). Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat: relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Exp Neurol*. 49(1 Pt 1):58-85. PMID: [1183532](#).
- Krenzer M., Anacleit C., Vetrivelan R., Wang N., Vong L., Lowell B.B., Fuller P.M. y Lu J. (2011). Brainstem and spinal cord circuitry regulating REM sleep and muscle atonia. *PLoS One*. 6(10):e24998. PMID: [22043278](#).
- Kropotov J.D. (2009). Quantitative EEG, event-related potentials and neurotherapy. Amsterdam: Elsevier.
- Kuks J.B., Vos J.E. y O'Brien M.J. (1987). Coherence patterns of the infant sleep EEG in absence of the corpus callosum. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 66(1):8-14. PMID: [2431870](#).
- Lai Y.Y. y Siegel J M. (1988). Medullary regions mediating atonia. *J Neurosci*. 8(12):4790-4796. PMID: [2904495](#).
- Landfield P.W., McGaugh J.L. y Tusa R.J. (1972). Theta rhythm: a temporal correlate of memory storage processes in the rat. *Science*. 175(4017):87-89. PMID: [5008585](#).
- Langer T., Kaneko C.R., Scudder C.A. y Fuchs AF. (1986). Afferents to the abducens nucleus in the monkey and cat. *J Comp Neurol*. 245(3):379-400. PMID: [3082944](#).
- Legendre R. y Piéron H. (1913). Recherches sur le besoin de sommeil consecutif à une veille prolongée. *Z Allg Physiol*. 14:235
- Leigh R.J. y Zee D.S. (2006). Neurology of eye movements. New York: Oxford University Press.
- Lennerstrand G. (1974). Mechanical studies on the retractor bulbi muscle and its motor units in the cat. *J Physiol*. 236(1):43-55. PMID: [4818515](#).
- Lerma J. y García-Austt E. (1985). Hippocampal theta rhythm during paradoxical sleep. Effects of afferent stimuli and phase relationships with phasic events. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 60(1):46-54. PMID: [2578354](#).
- Leuchter A.F., Dunkin J.J., Lufkin R.B., Anzai Y., Cook I.A. y Newton T.F. (1994). Effect of white matter disease on functional connections in the aging brain. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 57(11):1347-1354. PMID: [7964810](#).
- Leung L.W. y Borst J.G. (1987). Electrical activity of the cingulate cortex. I. Generating mechanisms and relations to behavior. *Brain Res*. 407(1):68-80. PMID: [3580857](#).
- Levi-Montalcini R. (1942). Origine ed evoluzione del nucleo accessorio del nervo abducente nell'embrione di pollo. *Acta Pontifica Accademia Scientiarum*. VI(85):335-347.
- Lindsley D.B., Bowden J.W. y Magoun H.W. (1949). Effect upon the EEG of acute injury to the brain stem activating system. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1(4):475-86. PMID: [18421836](#).
- Lindsley D.B., Schreiner L.H., Knowles W.B. y Magoun H.W. (1950). Behavioral and EEG changes following chronic brain stem lesions in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 2(4):483-98. PMID: [14793516](#).
- Linsenmeier R.A., Mines A.H. y Steinberg R.H. (1983). Effects of hypoxia and hypercapnia on the light peak and electroretinogram of the cat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 24(1):37-46. PMID: [6826313](#).
- Lisman J.E. y Jensen O. (2013). The Theta-Gamma Neural Code. *Neuron*. 77(6):1002-1016. PMID: [23522038](#).

- Llinás R. y Ribary U. (1993). Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90(5):2078-2081. PMID: [8446632](#).
- Lopez-Barneo J., Darlot C., Berthoz A. y Baker R. (1982). Neuronal activity in prepositus nucleus correlated with eye movement in the alert cat. *J Neurophysiol*. 47(2):329-352. PMID: [7062103](#).
- Lu J., Bjorkum A.A., Xu M., Gaus S.E., Shiromani P.J. y Saper C.B. (2002). Selective activation of the extended ventrolateral preoptic nucleus during rapid eye movement sleep. *J Neurosci*. 22(11):4568-4576. PMID: [12040064](#).
- Lu J., Greco M.A., Shiromani P. y Saper C.B. (2000). Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *J Neurosci*. 20(10):3830-3842. PMID: [10804223](#).
- Lu J., Zhou T.C. y Saper C.B. (2006a). Identification of wake-active dopaminergic neurons in the ventral periaqueductal gray matter. *J Neurosci*. 26(1):193-202. PMID: [16399687](#).
- Lu J., Sherman D., Devor M. y Saper C.B. (2006b). A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature*. 441(7093):589-594. PMID: [16688184](#).
- Lu J., Shiromani P. y Saper C.B. (1999). Retinal input to the sleep-active ventrolateral preoptic nucleus in the rat. *Neuroscience*. 93(1):209-214. PMID: [10430484](#).
- Lu J.W., Mann G.L., Ross R.J., Morrison A.R. y Kubin L. (2005). Differential effect of sleep-wake states on lingual and dorsal neck muscle activity in rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 147(2-3):191-203. PMID: [15964252](#).
- Lubenov E.V. y Siapas A.G. (2009). Hippocampal theta oscillations are travelling waves. *Nature*. 459(7246):534-539. PMID: [19489117](#).
- Luppi P.H., Gervasoni D., Verret L., Goutagny R., Peyron C., Salvert D., Leger L. y Fort P. (2006). *J Physiol Paris*. 100(5-6):271-283. PMID: [17689057](#).
- Magoun H.W. (1952). An ascending reticular activating system in the brain stem. *AMA Arch Neurol Psychiatry*. 67(2):145-154. PMID: [14893989](#).
- Magoun H.W. y Rhines R. (1946). An inhibitory mechanism in the bulbar reticular formation. *J Neurophysiol*. 9:165-71. PMID: [21028159](#).
- Mandile P., Vescia S., Montagnese P., Romano F. y Onio G.A. (1996). Characterization of transition sleep episodes in baseline EEG recordings of adult rats. *Physiol Behav*. 60(6):1435-1439. PMID: [8946487](#).
- Marini G., Tredici G. y Mancina M. (1998). Abolition of the neocortically monitored theta rhythm after ibotenic acid lesion of the parafascicular nucleus in behaving rats. *Sleep Res Online*. 1(4):128-131. PMID: [11382869](#).
- Marks G.A. y Roffwarg H.P. (1993). Spontaneous activity in the thalamic reticular nucleus during the sleep/wake cycle of the freely-moving rat. *Brain Res*. 623(2):241-248. PMID: [8221106](#).
- Márquez-Ruiz J. (2008). Organización de los movimientos oculares durante el sueño en el gato. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Márquez-Ruiz J. y Escudero M. (2008). Tonic and phasic phenomena underlying eye movements during sleep in the cat. *J Physiol*. 586(14):3461-3477. PMID: [18499729](#).
- Márquez-Ruiz J. y Escudero M. (2009). Eye movements and abducens motoneuron behavior during cholinergically induced REM sleep. *Sleep*. 32(4):471-481. PMID: [19413141](#).
- Márquez-Ruiz J. y Escudero M. (2010). Eye movements and abducens motoneuron behavior after cholinergic activation of the nucleus reticularis pontis caudalis. *Sleep*. 33(11):1517-1527. PMID: [21102994](#).
- Marshall L. y Born J. (2007). The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation. *Trends Cogn Sci*. 11(10):442-450. PMID: [17905642](#).
- Mauthner L. (1890). Zur pathologie und physiologie des schlafes. *Wien Klin Wochenschr*. 3:445-446
- Mayr R. (1971). Structure and distribution of fibre types in the external eye muscles of the rat. *Tissue Cell*. 3(3):433-462. PMID: [18631565](#).
- McCarley R.W. y Hobson J.A. (1970). Cortical unit activity in desynchronized sleep. *Science*. 167(3919):901-903. PMID: [4312290](#).
- McCormick D.A. (1989). Cholinergic and noradrenergic modulation of thalamocortical processing. *Trends Neurosci*. 12(6):215-21. PMID: [2473557](#).
- McCough G.P. y Adler F.H. (1932). Extraocular reflexes. *Am. J. Physiol*. 100: 78-88.

- McCrea R.A., Strassman A. y Highstein S.M. (1986). Morphology and physiology of abducens motoneurons and internuclear neurons intracellularly injected with horseradish peroxidase in alert squirrel monkeys. *J Comp Neurol.* 243(3):291-308. PMID: [3512626](#).
- McCrea R.A., Strassman A., May E. y Highstein S.M. (1987). Anatomical and physiological characteristics of vestibular neurons mediating the horizontal vestibulo-ocular reflex of the squirrel monkey. *J Comp Neurol.* 264(4):547-570. PMID: [2824574](#).
- McGinty D.J. y Serman M.B. (1968). Sleep suppression after basal forebrain lesions in the cat. *Science.* 160(3833):1253-1255. PMID: [5689683](#).
- Missal M., de Brouwer S., Lefèvre P. y Olivier E. (2000). Activity of mesencephalic vertical burst neurons during saccades and smooth pursuit. *J Neurophysiol.* 83(4):2080-2092. PMID: [10758118](#).
- Mitler M.M. y Dement W.C. (1974). Cataleptic-like behavior in cats after micro-injections of carbachol in pontine reticular formation. *Brain Res.* 68(2):335-343. PMID: [4857063](#).
- Mölle M., Eschenko O., Gais S., Sara S.J. y Born J. (2009). The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *Eur J Neurosci.* 29(5):1071-1081. PMID: [19245368](#).
- Mölle M., Marshall L., Gais S. y Born J. (2002). Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. *J Neurosci.* 22(24):10941-10947. PMID: [12486189](#).
- Mölle M., Yeshenko O., Marshall L., Sara S.J. y Born J. (2006). Hippocampal sharp wave-ripples linked to slow oscillations in rat slow-wave sleep. *J Neurophysiol.* 96(1):62-70. PMID: [16611848](#).
- Montgomery S.M., Sirota A. y Buzsáki G. (2008). Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *J Neurosci.* 28(26):6731-6741. PMID: [18579747](#).
- Morales F.R. y Chase M.H. (1978). Intracellular recording of lumbar motoneuron membrane potential during sleep and wakefulness. *Exp Neurol.* 62(3):821-827. PMID: [750226](#).
- Morales F.R. y Chase M.H. (1981). Postsynaptic control of lumbar motoneuron excitability during active sleep in the chronic cat. *Brain Res.* 225(2):279-295. PMID: [7306790](#).
- Morcuende S., Delgado-Garcia J.M. y Ugolini G. (2002). Neuronal premotor networks involved in eyelid responses: retrograde transneuronal tracing with rabies virus from the orbicularis oculi muscle in the rat. *J Neurosci.* 22(20):8808-8818. PMID: [12388587](#).
- Morrison A.R. (1988). Paradoxical sleep without atonia. *Arch Ital Biol.* 126(4):275-289. PMID: [3058081](#).
- Moruzzi G. y Magoun H.W. (1949). Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1(4):455-473. PMID: [18421835](#).
- Moschovakis A.K. (1997). The neural integrators of the mammalian saccadic system. *Front Biosci.* 2:552-577. PMID: [9341239](#).
- Mosko S., Lynch G. y Cotman C.W. (1973). The distribution of septal projections to the hippocampus of the rat. *J Comp Neurol.* 152(2):163-174. PMID: [4761657](#).
- Mouret J., Delorme F. y Jouvet M. (1967). Lesions of the pontine tegmentum and sleep in rats. *C R Seances Soc Biol Fil.* 161(7):1603-1606. PMID: [4231637](#).
- Nakamura Y., Goldberg L.J. Chandler S.H. y Chase M.H. (1978). Intracellular analysis of trigeminal motoneuron activity during sleep in the cat. *Science.* 199(4325):204-207. PMID: [202025](#).
- Nauta W.J. (1946). Hypothalamic regulation of sleep in rats; an experimental study. *J Neurophysiol.* 9:285-316. PMID: [20991815](#).
- Neckelmann D. y Ursin R. (1993). Sleep stages and EEG power spectrum in relation to acoustical stimulus arousal threshold in the rat. *Sleep.* 16(5):467-477. PMID: [8378687](#).
- Nelson J.P., McCarley R.W. y Hobson J.A. (1983). REM sleep burst neurons, PGO waves, and eye movement information. *J Neurophysiol.* 50(4):784-797. PMID: [6631463](#).
- Nielsen T., Montplaisir J. y Lassonde M. (1993). Decreased interhemispheric EEG coherence during sleep in agenesis of the corpus callosum. *Eur Neurol.* 33(2):173-176. PMID: [8467828](#).

- Niemeyer G y Steinberg RH. (1984). Differential effects of pCO₂ and pH on the ERG and light peak of the perfused cat eye. *Vision Res.* 24(3):275-280. PMID: [6426165](#).
- Núñez A., Amzica F. y Steriade M. (1992). Voltage-dependent fast (20-40 Hz) oscillations in long-axonated neocortical neurons. *Neuroscience.* 51(1):7-10. PMID: [1465188](#).
- Núñez A., de Andrés I. y García-Austt E. (1991). Relationships of nucleus reticularis pontis oralis neuronal discharge with sensory and carbachol evoked hippocampal theta rhythm. *Exp Brain Res.* 87(2):303-308. PMID: [1769384](#).
- Orem J. y Dement W.C. (1974). Spontaneous eyelid behavior in the sleeping cat. *Exp Neurol.* 44(2):145-159. PMID: [4367234](#).
- Orem J., Lovering A.T., Dunin-Barkowski W. y Vidruk E.H. (2000). Endogenous excitatory drive to the respiratory system in rapid eye movement sleep in cats. *J Physiol.* 527(2):365-376. PMID: [10970437](#).
- Palmer L.M., Schulz J.M., Murphy S.C., Ledergerber D., Murayama M. y Larkum M.E. (2012). The cellular basis of GABA(B)-mediated interhemispheric inhibition. *Science.* 335(6071):989-993. PMID: [22363012](#).
- Panula P., Pirvola U., Auvinen S. y Airaksinen M.S. (1989). Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience.* 28(3):585-610. PMID: [2710333](#).
- Patel J., Fujisawa S., Berényi A., Royer S. y Buzsáki G. (2012). Traveling theta waves along the entire septotemporal axis of the hippocampus. *Neuron.* 75(3):410-417. PMID: [22884325](#).
- Paxinos G. y Watson C. (2007). The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam: Elsevier.
- Petit J.M. y Magistretti P.J. (2016). Regulation of neuron-astrocyte metabolic coupling across the sleep-wake cycle. *Neuroscience.* 323:135-156. PMID: [26704637](#).
- Petsche H., Stumpf C. y Gogolak G. (1962). The significance of the rabbit's septum as a relay station between the midbrain and the hippocampus. I. The control of hippocampus arousal activity by the septum cells. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 14:202-211. PMID: [14038334](#).
- Peyrache A., Battaglia F.P. y Destexhe A. (2011). Inhibition recruitment in prefrontal cortex during sleep spindles and gating of hippocampal inputs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 108(41):17207-17212. PMID: [21949372](#).
- Pilar G. (1967). Further study of the electrical and mechanical responses of slow fibers in cat extraocular muscles. *J Gen Physiol.* 50(9):2289-2300. PMID: [6064152](#).
- Plotkin A., Paperno E., Vasserman G. y Segev R. (2008). Magnetic tracking of eye motion in small, fast-moving animals. *IEEE Trans. Magn.* 44(11):4492-4495. DOI: [10.1109/TMAG.2008.2002187](#).
- Porkka-Heiskanen T. y Kalinchuk A.V. (2011). Adenosine, energy metabolism and sleep homeostasis. *Sleep Med Rev.* 15(2):123-135. PMID: [20970361](#).
- Porkka-Heiskanen T., Alanko L., Kalinchuk A. y Stenberg D. (2001). Adenosine and sleep. *Sleep Med Rev.* 6(4):321-332. DOI: [10.1053/smr.2001.0201](#).
- Puig M.V., Ushimaru M. y Kawaguchi Y. (2008). Two distinct activity patterns of fast-spiking interneurons during neocortical UP states. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105(24):8428-8433. PMID: [18550841](#).
- Ragert P., Nierhaus T., Cohen L.G. y Villringer A. (2011). Interhemispheric interactions between the human primary somatosensory cortices. *PLoS One.* 6(2):e16150. PMID: [21347308](#).
- Rampon C., Luppi P.H., Fort P., Peyron C. y Jouvet M. (1996). Distribution of glycine-immunoreactive cell bodies and fibers in the rat brain. *Neuroscience.* 75(3):737-755. PMID: [8951870](#).
- Rasch B. y Born J. (2013). About sleep's role in memory. *Physiol Rev.* 93(2):681-766. PMID: [23589831](#).
- Reichert C.F., Maire M., Schmidt C. y Cajochen C. (2016). Sleep-Wake Regulation and Its Impact on Working Memory Performance: The Role of Adenosine. *Biology (Basel).* 5(1):e11. PMID: [26861410](#).
- Reinoso-Suárez F., De Andrés I., Rodrigo-Angulo M.L. y Rodríguez-Veiga E. (1994). Location and anatomical connections of a paradoxical sleep induction site in the cat ventral pontine tegmentum. *Eur J Neurosci.* 6(12):1829-1836. PMID: [7535630](#).

- Reisine H., Strassman A. y Highstein S.M. (1981). Eye position and head velocity signals are conveyed to medial rectus motoneurons in the alert cat by the ascending tract of Deiters'. *Brain Res.* 211(1):153-157. PMID: [7225829](#).
- Reppert S.M. y Weaver D.R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature.* 418(6901):935-941. PMID: [12198538](#).
- Robinson D.A. (1963). A method of measuring eye movement using a scleral search coil in a magnetic field. *IEEE Trans Biomed Eng.* 10:137-145. PMID: [14121113](#).
- Robinson D.A. (1964). The mechanics of human saccadic eye movement. *J Physiol.* 174:245-264. PMID: [14244121](#).
- Robinson T.E., Kramis R.C. y Vanderwolf C.H. (1977). Two types of cerebral activation during active sleep: relations to behavior. *Brain Res.* 124(3):544-549. PMID: [192415](#).
- Rodríguez F., Salas C., Vargas J.P. y Torres B. (2001). Eye-movement recording in freely moving animals. *Physiol Behav.* 72(4):455-460. PMID: [11282128](#).
- Roffwarg H.F., Dement W.C., Muzio J.N. y Fisher C. (1962). Dream imagery: relationship to rapid eye movements of sleep. *Arch Gen Psychiatry.* 7:235-258. PMID: [13982370](#).
- Rosanova M. y Ulrich D. (2005). Pattern-specific associative long-term potentiation induced by a sleep spindle-related spike train. *J Neurosci.* 25(41):9398-9405. PMID: [16221848](#).
- Rowe K., Moreno R., Lau T.R., Walloppillai U., Nearing B.D., Kocsis B., Quattrochi J., Hobson J.A. y Verrier R.L. (1999). Heart rate surges during REM sleep are associated with theta rhythm and PGO activity in cats. *Am J Physiol.* 277(3Pt2):R843-849. PMID: [10484502](#).
- Rukhadze I., Kamani H. y Kubin L. (2011). Quantitative differences among EMG activities of muscles innervated by subpopulations of hypoglossal and upper spinal motoneurons during non-REM sleep - REM sleep transitions: a window on neural processes in the sleeping brain. *Arch Ital Biol.* 149(4):499-515. PMID: [22205596](#).
- Sah P., Faber E.S., Lopez De Armentia M. y Power J. (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev.* 83(3):803-834. PMID: [12843409](#).
- Sakai K. (1988). Executive mechanisms of paradoxical sleep. *Arch Ital Biol.* 126(4):239-257. PMID: [3058079](#).
- Sakai K. (1991). Physiological properties and afferent connections of the locus coeruleus and adjacent tegmental neurons involved in the generation of paradoxical sleep in the cat. *Prog Brain Res.* 88:31-45. PMID: [1687620](#).
- Sakai K. y Jouvet M. (1980). Brain stem PGO-on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 194(2):500-505. PMID: [7388627](#).
- Sakai K., Crochet S. y Onoe H. (2001). Pontine structures and mechanisms involved in the generation of paradoxical (REM) sleep. *Arch Ital Biol.* 139(1-2):93-107. PMID: [11256190](#).
- Sakai K., Sano K. e Iwahara S. (1973). Eye movements and hippocampal theta activity in cats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 34(5):547-549. PMID: [4121327](#).
- Sakai K., Sastre J.P., Salvat D., Touret M., Tohyama M. y Jouvet M. (1979). Tegmentoreticular projections with special reference to the muscular atonia during paradoxical sleep in the cat: an HRP study. *Brain Res.* 176(2):233-254. PMID: [227527](#).
- Salas C., Torres B. y Rodríguez F. (1999). A method for measuring eye movements using Hall-effect devices. *Behav Res Methods Instrum Comput.* 31(2):353-358. PMID: [10495822](#).
- Sallanon M., Denoyer M., Kitahama K., Aubert C., Gay N. y Jouvet M. (1989). Long-lasting insomnia induced by preoptic neuron lesions and its transient reversal by muscimol injection into the posterior hypothalamus in the cat. *Neuroscience.* 32(3):669-683. PMID: [2601839](#).
- Sánchez-López A. y Escudero M. (2015). An accurate and portable eye movement detector for studying sleep in small animals. *J Sleep Res.* 24(4):466-473. PMID: [25590417](#).
- Sanford L.D., Cheng C.S., Silvestri A.J., Tang X., Mann G.L., Ross R.J. y Morrison A.R. (2001). Sleep and behavior in rats with pontine lesions producing REM without atonia. *SRO.* 4(1):1-5.
- Sano K., Iwahara S., Senba K., Sano A. y Yamazaki S. (1973). Eye movements and hippocampal theta activity in rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 35(6):621-625. PMID: [4128157](#).

- Saper C.B., Chou T.C. y Scammell T.E. (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends Neurosci.* 24(12):726-731. PMID: [11718878](#).
- Saper C.B., Fuller P.M., Pedersen N.P., Lu J. y Scammell T.E. (2010). Sleep state switching. *Neuron.* 68(6):1023-1042. PMID: [21172606](#).
- Saper C.B., Scammell T.E. y Lu J. (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature.* 437(7063):1257-1263. PMID: [16251950](#).
- Sasaki S y Shimazu H. (1981). Reticulovestibular organization participating in generation of horizontal fast eye movement. *Ann N Y Acad Sci.* 374:130-143. PMID: [6951433](#).
- Satoh K. y Fibiger H.C. (1986). Cholinergic neurons of the laterodorsal tegmental nucleus: efferent and afferent connections. *J Comp Neurol.* 253(3):277-302. PMID: [2432101](#).
- Scheffer-Teixeira R., Belchior H., Caixeta F.V., Souza B.C., Ribeiro S. y Tort A.B. (2012). Theta phase modulates multiple layer-specific oscillations in the CA1 region. *Cereb Cortex.* 22(10):2404-2414. PMID: [22079925](#).
- Scheffzük C., Kukushka V.I., Vyssotski A.L., Draguhn A., Tort A.B. y Brankač J. (2011). Selective coupling between theta phase and neocortical fast gamma oscillations during REM-sleep in mice. *PLoS One.* 6(12):e28489. PMID: [22163023](#).
- Schlag J., Merker B. y Schlag-Rey M. (1983). Comparison of EOG and search coil techniques in long-term measurements of eye position in alert monkey and cat. *Vision Res.* 23(10):1025-1030. PMID: [6649419](#).
- Schwarz J.S., Sridharan D. y Knudsen E.I. (2013). Magnetic tracking of eye position in freely behaving chickens. *Front Syst Neurosci.* 7:91. PMID: [24312023](#).
- Scudder C.A., Fuchs A.F. y Langer T.P. (1988). Characteristics and functional identification of saccadic inhibitory burst neurons in the alert monkey. *J Neurophysiol.* 59(5):1430-1454. PMID: [3385468](#).
- Seelke A.M., Karlsson K.A., Gall A.J. y Blumberg M.S. (2005). Extraocular muscle activity, rapid eye movements and the development of active and quiet sleep. *Eur J Neurosci.* 22(4):911-920. PMID: [16115214](#).
- Sei H. y Morita Y. (1996). Effect of ambient temperature on arterial pressure variability during sleep in the rat. *J Sleep Res.* 5(1):37-41. PMID: [8795800](#).
- Sevel D. (1986). The origins and insertions of the extraocular muscles: development, histologic features, and clinical significance. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 84:488-526. PMID: [3590478](#).
- Shaner R.F. (1934). The development of a medial motor nucleus and an accessory abducens nucleus in the pig. *J Anat.* 68(3):314-317. PMID: [17104479](#).
- Sherin J.E., Elmquist J.K., Torrealba F. y Saper C.B. (1998). Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *J Neurosci.* 18(12):4705-4721. PMID: [9614245](#).
- Sherin J.E., Shiromani P.J., McCarley R.W. y Saper C.B. (1996). Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science.* 271(5246):216-219. PMID: [8539624](#).
- Shouse M.N. y Siegel J.M. (1992). Pontine regulation of REM sleep components in cats: integrity of the pedunculopontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. *Brain Res.* 571(1):50-63. PMID: [1611494](#).
- Siapas A.G. y Wilson M.A. (1998). Coordinated interactions between hippocampal ripples and cortical spindles during slow-wave sleep. *Neuron.* 21(5):1123-1128. PMID: [9856467](#).
- Siegel J.M. (2009). Sleep viewed as a state of adaptive inactivity. *Nat Rev Neurosci.* 10(10):747-753. PMID: [19654581](#).
- Siegel J.M. (2011). REM sleep: a biological and psychological paradox. *Sleep Med Rev.* 15(3):139-142. PMID: [21482156](#).
- Siegel J.M., Nienhuis R. y Tomaszewski K.S. (1983). Rostral brainstem contributes to medullary inhibition of muscle tone. *Brain Res.* 268(2):344-348. PMID: [6871687](#).
- Simpson J.I. y Graf W. (1981). Eye-muscle geometry and compensatory eye movements in lateral-eyed and frontal-eyed animals. *Ann N Y Acad Sci.* 374:20-30. PMID: [6978631](#).
- Sirota A., Csicsvari J., Buhl D. y Buzsáki G. (2003). Communication between neocortex and

hippocampus during sleep in rodents. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100(4):2065-2069. PMID: [12576550](#).

Sirota A., Montgomery S., Fujisawa S., Isomura Y., Zugaro M. y Buzsáki G. (2008). Entrainment of neocortical neurons and gamma oscillations by the hippocampal theta rhythm. *Neuron*. 60(4):683-697. PMID: [19038224](#).

Sohal V.S., Zhang F., Yizhar O. y Deisseroth K. (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*. 459(7247):698-702. PMID: [19396159](#).

Soja P.J., López-Rodríguez F., Morales F.R. y Chase M.H. (1991). The postsynaptic inhibitory control of lumbar motoneurons during the atonia of active sleep: effect of strychnine on motoneuron properties. *J Neurosci*. 11(9):2804-2811. PMID: [1880550](#).

Spencer R.F. y Porter J.D. (2006). Biological organization of the extraocular muscles. *Prog Brain Res*. 151:43-80. PMID: [16221585](#).

Spencer R.F. y Wang S.F. (1996). Immunohistochemical localization of neurotransmitters utilized by neurons in the rostral interstitial nucleus of the medial longitudinal fasciculus (riMLF) that project to the oculomotor and trochlear nuclei in the cat. *J Comp Neurol*. 366(1):134-148. PMID: [8866850](#).

Spencer R.F., Baker R. y McCrear R.A. (1980). Localization and morphology of cat retractor bulbi motoneurons. *J Neurophysiol*. 43(3):754-770. PMID: [7373357](#).

Steinacker A. y Bach-y-Rita P. (1968). The fiber spectrum of the cat VI nerve to the lateral rectus and retractor bulbi muscles. *Experientia*. 24(12):1254-1255. PMID: [5703033](#).

Steinberg R.H., Linsenmeier R.A. y Griff E.R. (1985). Retinal pigment epithelial cell contributions to the electroretinogram and electrooculogram. En: N. N. Osborne and G. J. Chader (Eds) *Progress in Retinal Research*. pp. 33-67. Oxford: Pergamon.

Steininger T.L., Alam M.N., Gong H., Szymusiak R. y McGinty D. (1999). Sleep-waking discharge of neurons in the posterior lateral hypothalamus of the albino rat. *Brain Res*. 840(1-2):138-147. PMID: [10517961](#).

Steininger T.L., Gong H., McGinty D. y Szymusiak R. (2001). Subregional organization of preoptic

area/anterior hypothalamic projections to arousal-related monoaminergic cell groups. *J Comp Neurol*. 429(4):638-653. PMID: [11135241](#).

Steriade M. (1997). Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cereb Cortex*. 7(6):583-604. PMID: [9276182](#).

Steriade M. (2004). Acetylcholine systems and rhythmic activities during the waking-sleep cycle. *Prog Brain Res*. 145:179-196. PMID: [14650916](#).

Steriade M. y Demetresco M. (1960). Phenomena of reticular dynamogenesis on various levels of the optic tracts during intermittent light stimulation. *J Physiol (Paris)*. 52:224-225. PMID: [13834404](#).

Steriade M. y McCarley R.B. (2005). Brain control of wakefulness and sleep. Nueva York: Kluwer Academic/Plenum.

Steriade M., Amzica F. y Nuñez A. (1993c). Cholinergic and noradrenergic modulation of the slow (approximately 0.3 Hz) oscillation in neocortical cells. *J Neurophysiol*. 70(4):1385-1400. PMID: [8283204](#).

Steriade M., Datta S., Paré D., Oakson G. y Curró Dossi R.C. (1990). Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *J Neurosci*. 10(8):2541-2559. PMID: [2388079](#).

Steriade M., McCormick D.A. y Sejnowski T.J. (1993a). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science*. 262(5134):679-685. PMID: [8235588](#).

Steriade M., Nuñez A. y Amzica F. (1993b). Intracellular analysis of relations between the slow (< 1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J Neurosci*. 13(8):3266-3283. PMID: [8340807](#).

Steriade M., Oakson G. y Ropert N. (1982). Firing rates and patterns of midbrain reticular neurons during steady and transitional states of the sleep-waking cycle. *Exp Brain Res*. 46(1):37-51. PMID: [7067790](#).

Steriade M., Paré D., Bouhassira D., Deschênes M. y Oakson G. (1989). Phasic activation of lateral geniculate and perigeniculate thalamic neurons during sleep with ponto-geniculo-occipital waves. *J Neurosci*. 9(7):2215-2229. PMID: [2746326](#).

- Steriade M., Sakai K. y Jouvet M. (1984). Bulbo-thalamic neurons related to thalamocortical activation processes during paradoxical sleep. *Exp Brain Res.* 54(3):463-475. PMID: [6723865](#).
- Strassman A., Highstein S.M. y McCreary R.A. (1986a). Anatomy and physiology of saccadic burst neurons in the alert squirrel monkey. I. Excitatory burst neurons. *J Comp Neurol.* 249(3):337-57. PMID: [3734160](#).
- Strassman A., Highstein S.M. y McCreary R.A. (1986b). Anatomy and physiology of saccadic burst neurons in the alert squirrel monkey. II. Inhibitory burst neurons. *J Comp Neurol.* 249(3):358-80. PMID: [3734161](#).
- Sullivan D., Csicsvari J., Mizuseki K., Montgomery S., Diba K. y Buzsáki G. (2011). Relationships between hippocampal sharp waves, ripples, and fast gamma oscillation: influence of dentate and entorhinal cortical activity. *J Neurosci.* 31(23):8605-8616. PMID: [21653864](#).
- Sun X., Whitefield S., Rusak B. y Semba K. (2001). Electrophysiological analysis of suprachiasmatic nucleus projections to the ventrolateral preoptic area in the rat. *Eur J Neurosci.* 14(8):1257-1274. PMID: [11703455](#).
- Szymusiak R., Alam N., Steininger T.L. y McGinty D. (1998). Sleep-waking discharge patterns of ventrolateral preoptic/anterior hypothalamic neurons in rats. *Brain Res.* 803(1-2):178-188. PMID: [9729371](#).
- Takahashi K., Kayama Y., Lin J.S. y Sakai K. (2010). Locus coeruleus neuronal activity during the sleep-waking cycle in mice. *Neuroscience.* 169(3):1115-1126. PMID: [20542093](#).
- Takahashi K., Lin J.S. y Sakai K. (2006). Neuronal activity of histaminergic tuberomammillary neurons during wake-sleep states in the mouse. *J Neurosci.* 26(40):10292-10298. PMID: [17021184](#).
- Takahashi K., Lin J.S. y Sakai K. (2009). Characterization and mapping of sleep-waking specific neurons in the basal forebrain and preoptic hypothalamus in mice. *Neuroscience.* 161(1):269-292. PMID: [19285545](#).
- Takakusaki K., Kohyama J., Matsuyama K. y Mori S. (2001). Medullary reticulospinal tract mediating the generalized motor inhibition in cats: parallel inhibitory mechanisms acting on motoneurons and on interneuronal transmission in reflex pathways. *Neuroscience.* 103(2):511-527. PMID: [11246165](#).
- Takeuchi S., Mima T., Murai R., Shimazu H., Isomura Y. y Tsujimoto T. (2015). Gamma Oscillations and Their Cross-frequency Coupling in the Primate Hippocampus during Sleep. *Sleep.* 38(7):1085-1091. PMID: [25669188](#).
- Terni T. (1922). Ricerche sul nervo abducente e in special modo intorno as significato del suo nucleo accessorio d'origine. *Folia Neurobiol.* 12:277-327.
- Thompson R.H., Canteras N.S. y Swanson L.W. (1996). Organization of projections from the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a PHA-L study in the rat. *J Comp Neurol.* 376(1):143-173. PMID: [8946289](#).
- Tobler I., Franken P. y Scherschlicht R. (1990). Sleep and EEG spectra in the rabbit under baseline conditions and following sleep deprivation. *Physiol Behav.* 48(1):121-129. PMID: [2236258](#).
- Tort A.B., Komorowski R., Eichenbaum H. y Kopell N. (2010). Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. *J Neurophysiol.* 104(2):1195-1210. PMID: [20463205](#).
- Tort A.B., Kramer M.A., Thorn C., Gibson D.J., Kubota Y., Graybiel A.M. y Kopell N.J. (2008). Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105(51):20517-20522. PMID: [19074268](#).
- Tort A.B., Scheffer-Teixeira R., Souza B.C., Draguhn A. y Brankačk J. (2013). Theta-associated high-frequency oscillations (110-160Hz) in the hippocampus and neocortex. *Prog Neurobiol.* 100:1-14. PMID: [23022096](#).
- Trachsel L., Tobler I. y Borbély A.A. (1988). Electroencephalogram analysis of non-rapid eye movement sleep in rats. *Am J Physiol.* 255(1 Pt 2):R27-37. PMID: [3394843](#).
- Traub R.D. (2003). Fast Oscillations and Epilepsy. *Epilepsy Curr.* 3(3):77-79. PMID: [15309064](#).
- Traub R.D., Cunningham M.O., Gloveli T., LeBeau F.E., Bibbig A., Buhl E.H. y Whittington M.A. (2003). *Proc Natl Acad Sci USA.* 100(19):11047-11052. PMID: [12960382](#).

- Traub R.D., Draguhn A., Whittington M.A., Baldeweg T., Bibbig A., Buhl E.H. y Schmitz D. (2002). *Rev Neurosci.* 13(1):1-30. PMID: [12013024](#).
- Trulson M.E., Jacobs B.L. y Morrison A.R. (1981). Raphe unit activity during REM sleep in normal cats and in pontine lesioned cats displaying REM sleep without atonia. *Brain Res.* 226(1-2):75-91. PMID: [7296301](#).
- Tukker J.J., Fuentealba P., Hartwich K., Somogyi P. y Klausberger T. (2007). Cell type-specific tuning of hippocampal interneuron firing during gamma oscillations in vivo. *J Neurosci.* 27(31):8184-8189. PMID: [17670965](#).
- Tweedale J.W., Lakhmi C.J., Watada J. y Howlett R.J. (2015). Knowledge-based information systems in practice. pp. 115-137 Heidelberg: Springer.
- Ueno R., Honda K., Inoué S. y Hayaishi O. (1983). Prostaglandin D₂, a cerebral sleep-inducing substance in rats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 80(6):1735-1737. PMID: [6572936](#).
- Urade Y. y Hayaishi O. (2011). Prostaglandin D₂ and sleep/wake regulation. *Sleep Med Rev.* 15(6):411-418. PMID: [22024172](#).
- Van der Werf Y.D., Witter M.P. y Groenewegen H.J. (2002). The intralaminar and midline nuclei of the thalamus. Anatomical and functional evidence for participation in processes of arousal and awareness. *Brain Res Brain Res Rev.* 39(2-3):107-140. PMID: [12423763](#).
- Vanni-Mercier G., Pelisson D., Goffart L., Sakai K. y Jouvet M. (1994). Eye saccade dynamics during paradoxical sleep in the cat. *Eur J Neurosci.* 6(8):1298-306. PMID: [7981872](#).
- Vanni-Mercier G., Sakai K., Lin J.S. y Jouvet M. (1989). Mapping of cholinergic brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch Ital Biol.* 127(3):133-164. PMID: [2774793](#).
- Verret L., Fort P., Gervasoni D., Léger L. y Luppi P.H. (2006). Localization of the neurons active during paradoxical (REM) sleep and projecting to the locus coeruleus noradrenergic neurons in the rat. *J Comp Neurol.* 495(5):573-586. PMID: [16498678](#).
- Verret L., Goutagny R., Fort P., Cagnon L., Salvat D., Léger L., Boissard R., Salin P., Peyron C. y Luppi P.H. (2003). A role of melanin-concentrating hormone producing neurons in the central regulation of paradoxical sleep. *BMC Neurosci.* 4:19. PMID: [12964948](#).
- Vertes R.P. (1979). Brain stem gigantocellular neurons: patterns of activity during behavior and sleep in the freely moving rat. *J Neurophysiol.* 42(1):214-228. PMID: [219157](#).
- Vertes R.P. (1981). An analysis of ascending brain stem systems involved in hippocampal synchronization and desynchronization. *J Neurophysiol.* 46(5):1140-1159. PMID: [7299451](#).
- Vertes R.P. y Kocsis B. (1997). Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience.* 81(4):893-926. PMID: [9330355](#).
- Vertes R.P., Colom L.V., Fortin W.J. y Bland B.H. (1993). Brainstem sites for the carbachol elicitation of the hippocampal theta rhythm in the rat. *Exp Brain Res.* 96(3):419-429. PMID: [8299744](#).
- Vetrivelan R., Fuller P.M., Tong Q. y Lu J. (2009). Medullary circuitry regulating rapid eye movement sleep and motor atonia. *J Neurosci.* 29(29):9361-9369. PMID: [19625526](#).
- Villis T., Hepp K., Schwarz U. y Henn V. (1989). On the generation of vertical and torsional rapid eye movements in the monkey. *Exp Brain Res.* 77(1):1-11. PMID: [2792252](#).
- von Economo C., (1930). Sleep as a problem of localization. *Journal of Nervous & Mental Disease.* 71(3):249-259.
- Vyazovskiy V., Achermann P., Borbély A.A. y Tobler I. (2004). Interhemispheric coherence of the sleep electroencephalogram in mice with congenital callosal dysgenesis. *Neuroscience.* 124(2):481-488. PMID: [14980397](#).
- Watts A.G., Swanson L.W. y Sanchez-Watts G. (1987). Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: I. Studies using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin in the rat. *J Comp Neurol.* 258(2):204-229. PMID: [3294923](#).
- Webster H.H. y Jones B.E. (1988). Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res.* 458(2):285-302. PMID: [2905197](#).
- Weschenfelder J., Sander C., Kluge M., Kirkby K.C. y Himmerich H. (2012). The influence of cytokines on

- wakefulness regulation: clinical relevance, mechanisms and methodological problems. *Psychiatr Danub.* 24(2):112-126. PMID: [22706407](#).
- Whittington M.A., Cunningham M.O., LeBeau F.E., Racca C. y Traub R.D. (2011). Multiple origins of the cortical γ rhythm. *Dev Neurobiol.* 71(1):92-106. PMID: [21154913](#).
- Whittington M.A., Traub R.D. y Jefferys J.G. (1995). Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation. *Nature.* 373(6515):612-615. PMID: [7854418](#).
- Whittington M.A., Traub R.D., Kopell N., Ermentrout B. y Buhl E.H. (2000). Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. *Int J Psychophysiol.* 38(3):315-336. PMID: [11102670](#).
- Wierzynski C.M., Lubenov E.V., Gu M. y Siapas A.G. (2009). State-dependent spike-timing relationships between hippocampal and prefrontal circuits during sleep. *Neuron.* 61(4):587-596. PMID: [19249278](#).
- Wurtz R.H. y Goldberg M.E. (1989). The neurobiology of saccadic eye movements. Amsterdam: Elsevier.
- Yamamoto K., Mamelak A.N., Quattrochi J.J. y Hobson J.A. (1990). A cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum: spontaneous and drug-induced neuronal activity. *Neuroscience.* 39(2):295-304. PMID: [2087261](#).
- Yamuy J., Fung S.J., Xi M., Morales F.R. y Chase M.H. (1999). Hypoglossal motoneurons are postsynaptically inhibited during carbachol-induced rapid eye movement sleep. *Neuroscience.* 94(1):11-15. PMID: [10613491](#).
- Yamuy J., Jiménez I., Morales F., Rudomin P. y Chase M. (1994). Population synaptic potentials evoked in lumbar motoneurons following stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis during carbachol-induced atonia. *Brain Res.* 639(2):313-319. PMID: [8205484](#).
- Young C.K. y McNaughton N. (2009). Coupling of theta oscillations between anterior and posterior midline cortex and with the hippocampus in freely behaving rats. *Cereb Cortex.* 19(1):24-40. PMID: [18453538](#).
- Young G.A., Steinfels G.F. y Khazan N. (1978). Cortical EEG power spectra associated with sleep-awake behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 8(1):89-91. PMID: [203951](#).
- Zhang L., Ma X., Chen G., Barkai E. y Lin L. (2016). Theta Rhythmic Clock-Like Activity of Single Units in the Mouse Hippocampus. *J Neurosci.* 36(16):4415-4420. PMID: [27098686](#).
- Zhou W. y King W.M. (1997). Binocular eye movements not coordinated during REM sleep. *Exp Brain Res.* 117(1):153-160. PMID: [9386014](#).

