

Estudio de la conectividad funcional córtico-cortical y tálamo-cortical durante el sueño en gatos

Ana Carolina Maiztegui Croppi (A), María Sofía Rochetti (A), Claudia Egea (D), Diego Mateos (D) y Claudia Pascovich Rognoni (D)

Universidad Nacional de Córdoba - Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Ingeniería Biomédica

Categoría: Investigación en neurociencia.

INTRODUCCIÓN

Las neuronas cerebrales sincronizan sus actividades en regiones o en redes neuronales, esta sincronización resulta importante para el desarrollo de los ritmos cerebrales, que se diferencian según la banda de frecuencia que ocupa.

El sueño se divide en diferentes estados o fases: NREM (S1, S2 y S3) y sueño REM. Cada etapa del sueño está bien caracterizada por fenómenos (por ej. husos del sueño) y distinguida por un aumento o disminución de actividad en alguna de las bandas de frecuencia. Estas características ayudaron a estadificar las distintas etapas del sueño mediante registros de polisomnografías (PSG) de tres gatos adultos en el Software Spike2. La PSG es especializada ya que comprende únicamente ECG intracraneal y ECoG (electrocorticograma), estas dos se diferencian en la localización de los electrodos: sobre la duramadre o de profundidad dentro de la duramadre. Estos tipos de estudios tienen la ventaja de poseer una señal con mayor resolución temporal y menor ruido.

Luego de una etapa de procesamiento de las señales, se utilizó el análisis de PLI (Phase Lag Index) y wPLI (weighted Phase Lag Index). Mediante gráficos matrices se ordenaron los datos para discriminar el aumento o disminución de la CF (conectividad funcional) C-C (córtico-cortical) y T-C (tálamo-cortical) para cada estadía de sueño y banda de frecuencia. Los gráficos dejan en evidencia que hay una diferencia de wPLI entre los diferentes estados, en donde predomina la CF C-C en las frecuencias bajas en la conectividad C-C, mientras que en las bandas altas predomina la CF T-C.

MATERIALES Y MÉTODOS

A. Base de datos

Los datos son registros obtenidos de tres gatos adultos que cuentan con electrodos de tornillo de acero inoxidable colocados de forma intracraneal por encima de la duramadre en diferentes áreas corticales y núcleos talámicos (Fig. 1). Los animales fueron obtenidos y determinados en buen estado de salud por la Universidad de la República de Uruguay, todos los procedimientos experimentales fueron realizados de acuerdo a la guía [1] y fueron aprobados por las comisiones uruguayas de cuidado animal [2]. Asimismo, se hizo todo lo posible para utilizar el

número mínimo de animales necesario para producir datos científicos fiables.

Los datos se registraron en sesiones experimentales de 4 h que se realizaron entre las 14 y las 18 hs en un ambiente con temperatura controlada (21–23°C). La cabeza se coloca en posición estereotáxica mientras el cuerpo descansa en un saco de dormir en una posición semi-restringida. La actividad de ECoG se registró con una configuración monopolar referencial, con la referencia ubicada en el seno frontal izquierdo.

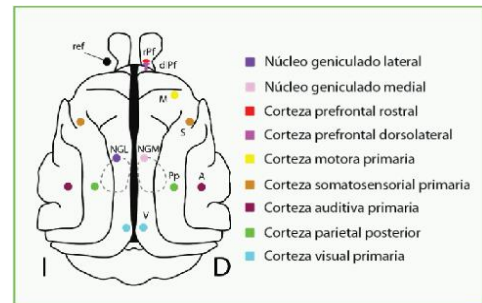


Fig. 1: Localización de electrodos.

Las señales bioeléctricas se amplificaron ($\times 1000$), se filtraron en una banda de frecuencia de 0,1 a 500 Hz, se muestrearon a 1024 Hz, (216 bits) y se almacenaron en una PC utilizando el software Spike 2 (Cambridge Electronic Design). Luego, se filtraron entre 0,5 Hz y 200 Hz.

B. Acondicionamiento de Datos

Este consta de cuatro etapas que se explicarán ampliamente en las siguientes subsecciones. En resumen, las etapas son:

I. *Estadificación*: Los registros se dividieron en épocas (intervalos de 5s) que se clasificaron en etapas equivalentes al sueño en humanos: vigilia, S1, S2, S3/S4 y REM. Esto se realizó sobre 10 registros de 4 horas cada uno en el programa Spike 2 de forma manual en distintas etapas del sueño sumando una etapa incógnita cuyos datos fueron consiguientemente descartados. Para esta tarea de análisis, se utilizaron conocimientos transmitidos por investigadores expertos en sueño. El objetivo de este proceso es obtener 50 épocas por cada una de las fases del sueño.

II. *Concatenación*: es el moldeado que se le realiza a los datos para obtener al final del proceso un archivo de tipo Matlab en el cual para cada valor registrado con los electrodos se le

asigna una fase de sueño, es decir cada instancia de tiempo registrado lleva aparejado una instancia del sueño.

III. Recorte y Normalización del número de épocas: se realizó un recorte del número de épocas que se encontraban excedidas para que todos los registros contasen con 50 épocas de cada estado.

IV. Filtrado de las señales: Las señales se filtraron en primer lugar a través de un filtro Butterworth, el cual es un filtro pasa banda para las frecuencias entre 0,1 y 200 Hz. Luego se utilizaron tres filtros Notch de entorno reducido en las frecuencias 50, 100 y 150 Hz para eliminar artefactos típicos que aparecen en un EEG y el ruido de línea típico de cada país que se puede encontrar en las señales.

C. Análisis de Phase-Lag-Index.

El PLI es una medida de sincronía entre señales que se calcula a partir de la fase relativa de dos señales de entrada.

El wPLI es una extensión del PLI pero es menos sensible al ruido y por lo tanto da un resultado más fiable [3].

Los datos se procesaron mediante un código Matlab y una función predefinida de PLI y wPLI en siete bandas de frecuencia (Fig. 2) obteniendo un archivo “.mat” donde se pueden observar matrices de conectividad entre los distintos canales (corteza y tálamo) y en las distintas bandas. Con PLI se analizó la señal completa y con wPLI se analizaron los datos por épocas.

Nombre	Frecuencias (Hz)
Delta (δ)	1 - 3.5
Theta (θ)	4 - 7
Alfa (α)	8 - 12
Beta (β)	13 - 30
Gamma (γ)	30 - 45
High Gamma ($h\gamma$)	45 - 99
High-Frequency-Oscillations (HFO)	102 - 120

Fig. 2: Frecuencias utilizadas

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para interpretar los resultados de PLI, en una primera instancia se empleó una función de Matlab para poder obtener un “Gráfico circular” por cada banda de frecuencia. En ellos, cada punto marcado en el círculo pertenece a un canal, se decidió graficar sólo los canales que se repetían en todos los sujetos y conservar sólo un canal talámico, obteniendo un gráfico de 6 puntas (Fig. 3). Las líneas que interconectan los canales indican conectividad entre los canales. Mientras más gruesa sea la línea, mayor es la conectividad.

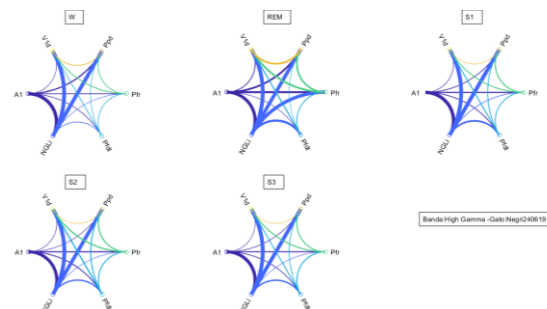


Fig. 3: Gráfico circular de un sujeto en la banda High Gamma.

En segundo lugar, los datos de wPLI fueron transformados a “Gráficos Matriz” a través de una función de Matlab. Se establecieron límites y se normalizó la escala de valores por cada banda.

Partiendo de esta nueva herramienta, se encontraron nuevos resultados con una considerable mejora en la cantidad y calidad de información resultante.

A. La conectividad funcional y las oscilaciones de frecuencia

En las bandas bajas (δ , θ , α y β) predomina la conectividad funcional C-C mientras en las bandas altas (γ , high- γ y HFO) predomina la conectividad T-C. (Fig. 4.A y B).

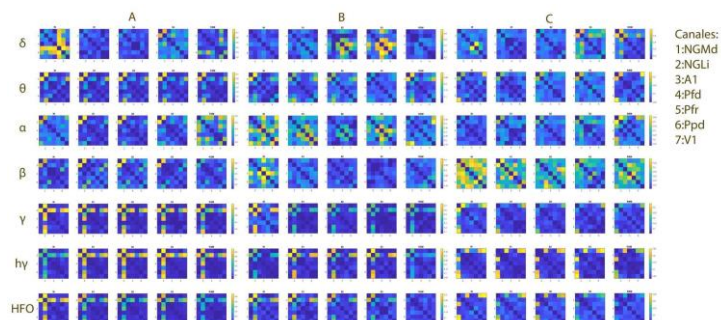


Fig. 4: Gráficos Matriz.

B. La conectividad funcional y las etapas de sueño

Los gráficos de matriz dejan en evidencia que hay una variación del wPLI que depende del estado de sueño lo que difiere, a su vez, dependiendo de la banda de frecuencia que se analice.

δ	Mayor en S3
θ	Mayor en REM
β	No se observan grandes cambios
α	Mayor en Vigilia
γ - HFO	CF T-C disminuye progresivamente; Menor en REM
$h\gamma$	CF T-C aumenta en el sueño; Mayor en S3

Fig. 5: Cambios de CF según banda

Para poder visualizar mejor estos cambios realizamos la comparación de algunas corteza por estado en lo que llamamos “Gráficos Violín” como ejemplo de ellos tenemos la Fig. 6.

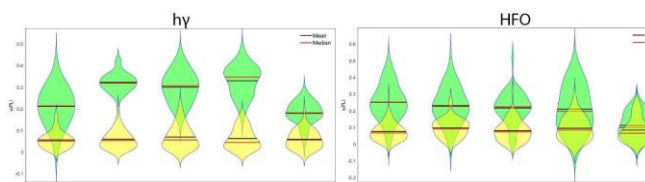


Fig. 6: Gráficos Violín Sujeto B en Bandas high- γ y HFO

La conectividad C-C en la banda δ es mayor durante la fase S3 del sueño (Fig. 5). Estos mismos resultados fueron observados en diversos estudios [4], [5], en los cuales a medida que el sueño se profundiza, se advierte una correlación más fuerte para la banda δ con un máximo valor en la etapa S3.

La CF C-C en la banda θ es mayor durante el sueño REM, sugiriendo que la inconsciencia del sueño está acompañada por un régimen de actividad único en las cortezas sensoriales [6].

Se puede observar, además, que la CF T-C en las bandas γ y HFO disminuyen durante el sueño en comparación con la vigilia, mientras que la banda high- γ aumenta durante el sueño con un valor máximo en S3, se habla de una hiper correlación entre la pérdida de la conciencia con la actividad de la banda γ , que puede deberse a una respuesta adaptativa responsable de suprimir actividades externas que puedan interrumpir el sueño [7]. Es interesante notar que un estudio encontró que el tálamo y las capas profundas de la corteza son más sensibles a los cambios en los niveles de conciencia [8].

Cabe destacar que, a la hora de comparar los resultados obtenidos con otras investigaciones, resulta una tarea complicada ya que no existen muchos estudios con una discriminación de las bandas de frecuencias como en este trabajo, debido a que los rangos más altos de frecuencia sólo se pueden medir de manera confiable en humanos a través de registros intracraneales, siendo imposible realizarlo en sujetos sanos por cuestiones éticas.

CONCLUSIÓN

En base a la hipótesis planteada, la cual habla de una diferencia de conectividad C-C y T-C según la etapa del sueño, se logró comprobar que el wPLI varía según la etapa, y de forma diferente en cada banda de frecuencia.

Se puede concluir que el tálamo juega un papel fundamental en la conciencia, y debería ser el foco de atención en futuras investigaciones.

REFERENCIAS

- [1] National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US), *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition*. 2011.
- [2] C. I. y N. de C. A. de la U. de la R. en Uruguay, *Protocolo N° 070153000089-17*. .
- [3] E. Ortiz, K. Stingl, J. Müninger, C. Braun, H. Preissl, and P. Belardinelli, "Weighted

- Phase Lag Index and Graph Analysis: Preliminary Investigation of Functional Connectivity during Resting State in Children," *Comput. Math. Methods Med.*, vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/186353.
- [4] K. Wang, Y. Zhang, Y. Zhu, and Y. Luo, "Associations between cortical activation and network interaction during sleep," *Behav. Brain Res.*, vol. 422, p. 113751, Mar. 2022, doi: 10.1016/J.BBR.2022.113751.
- [5] L. S. Imperatori *et al.*, "EEG functional connectivity metrics wPLI and wSMI account for distinct types of brain functional interactions," *Sci. Reports 2019 91*, vol. 9, no. 1, pp. 1–15, Jun. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-45289-7.
- [6] B. Davis, E. Tagliazucchi, J. Jovicich, H. Laufs, and U. Hasson, "Progression to deep sleep is characterized by changes to BOLD dynamics in sensory cortices," *Neuroimage*, vol. 130, pp. 293–305, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.12.034.
- [7] P. Bourdillon *et al.*, "Brain-scale cortico-cortical functional connectivity in the delta-theta band is a robust signature of conscious states: an intracranial and scalp EEG study," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-70447-7.
- [8] M. J. Redinbaugh *et al.*, "Thalamus Modulates Consciousness via Layer-Specific Control of Cortex," *Neuron*, vol. 106, no. 1, pp. 66-75.e12, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.neuron.2020.01.005.

ANEXO

En el siguiente link se pueden apreciar mejor todos los gráficos.

https://github.com/AnitaMaiztegui/Anexo_SABI