

**EFFECTES DE L'ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA
DE DIFERENTS REGIONS DEL NUCLI
PARAFASCICULAR DEL TÀLEM SOBRE EL
CONDICIONAMENT D'EVITACIÓ ACTIVA
DE DOS SENTITS, EN RATES**

ANNA M. VALE MARTÍNEZ

**EFFECTES DE L'ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA
DE DIFERENTS REGIONS DEL NUCLI
PARAFASCICULAR DEL TÀLEM SOBRE EL
CONDICIONAMENT D'EVITACIÓ ACTIVA
DE DOS SENTITS, EN RATES**

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Biblioteca General

Edifici A

08193 Bellaterra (Barcelona) Espanya

ANNA M. VALE MARTÍNEZ

Aquest treball s'ha pogut realitzar gràcies a:

una beca de Formació d'Investigadors de la Direcció General d'Universitats de la Generalitat de Catalunya (DOGC 10.03.93),

ajuts de la DGU (1992) i la DGR (1994), i

un ajut de la DGICYT (PB92-0617)

ANNA M. VALE MARTÍNEZ

**EFFECTES DE L'ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA
DE DIFERENTS REGIONS DEL NUCLI
PARAFASCICULAR DEL TÀLEM SOBRE EL
CONDICIONAMENT D'EVITACIÓ ACTIVA
DE DOS SENTITS, EN RATES**

Tesi Doctoral co-dirigida per: Dra. Margarita Martí Nicolovius
Dr. Ignacio Morgado Bernal

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut
Facultat de Psicologia
Universitat Autònoma de Barcelona
Bellaterra (Barcelona), 1997

Als meus pares i al Joaquim

AGRAÏMENTS

Aquesta tesi no hauria estat possible sense la col.laboració i l'ajut de moltes persones, que sabent-ho o no, ho han fet. Així que m'agradaria donar les gràcies a tots aquells que m'han acompanyat, m'han suportat i han contribuït a la realització d'aquest treball durant aquests mesos (mesos?...anys!!):

A la Tina, que amb el seu llapis i els seus asteriscs i fletxes ha fet meravelles. Per la seva dedicació, recolzament i ànims constants.

A l'Ignasi, per la seva confiança, disponibilitat, i per fer de guia de molts de nosaltres, tant en la docència com en la recerca.

A la Gemma, per tots els moments compartits a dintre i a fora del laboratori. Per la seva comprensió, ànims, consells i ganes d'ajudar sempre. A més, no és el mateix començar des del principi que tenir ja un principi anomenat "*Efectes de l'estimulació i de la lesió...*".

A la Meritxell, per la seva amistat, per donar-me un cop de mà sempre que ho he necessitat, pels bons moments viscuts i per tantes confidències (científiques i no científiques) que ens hem fet durant aquest camí que ja portem juntes.

A la Laura, per la seva comprensió, per escoltar amb paciència les meves històries, per "prestar-me" l'ordinador i per voler pujar al bar encara que ja hagués esmorzat.

Al David, per ajudar-me sempre que pot amb els FPB i amb tota cosa informàtica que se'm resisteix. Ah! i perquè és un dels millors "airejadors" (de fulls) que conec.

A la Pilar, pels seus útils consells, per estar sempre disposada a ajudar, i per fer-me veure que no cal ser tan exigent, i que ja en tinc prou...de sobres!.

A la Mabe i la Marga, també pels seus consells i pel que han hagut de suportar durant el passat quadrimestre (això com ho expliques?, comentaries això altre?, tu per on vas?...), ajudant-me en tot moment.

Al Carles, l'Ester i la Núria, per la desconexió (de la feina) que vam tenir allà per "terras galegas", per les seves habilitats: malabars, ocarina, concursos de ...

Als companys de totes les línies, sublínies i sub-sublínies d'investigació del laboratori. Sobretot a la Marta per ajudar-me en les coses compartides (classes, ejkuá, despatx...) fent que tot fos més agradable.

A la Sílvia, per encomanar-me el seu bon humor, sobretot a taula (hiii!, les tres en punt).

Al José, pels "favorcillos" que m'ha fet (referents als experiments, s'enten).

Al Bernardo Castellano, de la unitat d'Histologia de la Facultat de Medicina de la U.A.B., per la seva amabilitat i ajut en la realització de les fotografies de seccions histològiques, que no cal que busqueu en aquest exemplar, però que ja les veureu.

Als companys de la UNED, per incloure'm en els sopars i les canyes dolces. Els posaré per ordre alfabètic per no ferir cap susceptibilitat: Albert, Cesca, Fèlix, Jaume, Joan, Jose, Mercè, Montse, Natàlia i Toni. Sobretot, gràcies a la confiança del Fèlix i als e-mails dels "chamis" per fer que no em sentís tan sola durant l'agost.

A les companyes i profes del SAF, en especial Judith, Marga, Marta i Nieves, pels bons moments que hem passat i passarem a la sala i fora, i perquè m'han ajudat a canviar el xip durant unes hores al dia; ja se sap que "no només de tesi viu l'home".

A l'Ester, sempre tan atrafegada però que és capaç de trobar un moment per quedar, per escriure missatges o per trucar (durant aquella quinzena tan tonta)

Als companys de "l'aïen", l'Eli, la Nandi i el Francesc, per ser la seva amistat i sobretot per suportar estoicament els meus rotllos de les classes i de la tesi.

Principalment, al Joaquim per la seva paciència, comprensió, ànims, força, ajut (Annex 1: Sessió 1: 1 0 2 4...) en tot moment, i per ser com és.

I sobretot als meus pares, per l'esprit de superació que m'han encomanat i pel suport, la comprensió i la llibertat que m'ha donat sempre. A la meva mare, pels seus savis consells que tant m'han ajudat, encara que ella cregui que no els valoro. Al meu pare, per haver cregut sempre en mi i per donar-me ànims en els moments durs.

ABREVIATURES

ACh: acetilcolina

AChE: acetilcolinesterasa

ACTH: hormona adrenocorticotropa

AEIC: autoestimulació elèctrica intracranial

α -MSH: α -melanocitoestimulant

CaBP: cèl.lules calbindina-reactives (de l'anglès *calcium-binding protein calbindin*)

CeM: nucli central-medial

CL: nucli central-lateral

CM: nucli centremitjà

CM-PF: complex centremitjà-parafascicular

CS: col.lícles superiors

DA: dopamina

EEG: electroencefalograma; electroencefalogràfic

Eth: nucli etmoidal

FR: fascicle retroflexus (o feix habenulo-interpeduncular)

FPM: feix prosencefàlic medial

FRM: formació reticular mesencefàlica

GAL: galanina

GP: *globus pallidus* o globus pà.lid

GPe: segment extern del *globus pallidus* (o *globus pallidus* en la rata)

GPi: segment intern del *globus pallidus* (o entopeduncular en la rata)

[H³]DA: dopamina tritiada

HRP: peroxidasa del rave (de l'anglès *horseradish peroxidase*)

NA: noradrenalina

Na⁺: sodi

NADPH-diaforasa: (de l'anglès *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase*)

NRT: nucli reticular talàmic

NST: nucli subtalàmic

PHA-L: leucoaglutinina de *Phaseolus vulgaris* (de l'anglès *Phaseolus vulgaris*
-*leucoagglutinin*)

PC: nucli paracentral

PEP: potencial excitatori postsinàptic

PF: nucli parafascicular del tàlem

PFl: part lateral del nucli parafascicular del tàlem

PFm: part medial del nucli parafascicular del tàlem

SGP: substància grisa periaqüeductal

SN: substància negra

SNC: sistema nerviós central

SNC: part compacta de la substància negra

SNr: part reticulada de la substància negra

SPF: nucli subparafascicular

SRAA: sistema reticular activador ascendent

ÍNDIX

I. PLANTEJAMENT, HIPÒTESIS i OBJECTIUS EXPERIMENTALS	3
II. MARC TEÒRIC i ANTECEDENTS EXPERIMENTALS . . .	15
1. NUCLI PARAFASCICULAR: CARACTERÍSTIQUES GENERALS	17
1.1. LOCALITZACIÓ i MORFOLOGIA	17
1.2. RELACIONS ANATÒMIQUES	25
1.2.1. Els Intralaminars: Nuclis "Específics" o "No Específics"?	25
1.2.2. Projeccions Aferents i Eferents	28
1.2.2.1. Aferències del Nucli Parafascicular . . .	30
1.2.2.2. Eferències del Nucli Parafascicular . . .	37
1.3. NEUROQUÍMICA	52
1.3.1. Acetilcolina	52
1.3.2. Catecolamines	56
1.3.3. Serotonina	62
1.3.4. Aminoàcids	66
1.3.4.1. Inhibitoris: GABA	66
1.3.4.2. Excitatoris	68
1.3.5. Pèptids Neuroactius	70
1.3.6. Proteïnes	73
1.4. ELECTROFISIOLOGIA	75
1.5. RELACIONS FUNCIONALS	77
1.5.1. Sistema d'Activació General	77
1.5.1.1. Estudis Neuroquímics i de Projeccions	80
1.5.1.2. Estudis d'Activitat Neuronal	81
1.5.1.3. Estudis Clínics i amb Lesions	84
1.5.2. Sistema dels Ganglis Basals	86
1.5.2.1. Organització Paral.lela dels Circuits Ganglis Basals-Talamocorticals	87
1.5.2.2. La Desinhibició com a Mecanisme d'Expressió dels Ganglis Basals	91
1.5.3. Sistema de Supressió del Dolor	97
1.5.4. Substrat Nervios del Reforç	101

2. NUCLI PARAFASCICULAR: APRENTATGE i MEMÒRIA	107
2.1. ESTUDIS AMB LESIONS DEL NUCLI PARAFASCICULAR	109
2.1.1. Estudis Clínics	112
2.1.2. Estudis amb Animals	114
2.1.2.1. <i>Evitació Activa de Dos Sentits</i>	114
2.1.2.2. <i>Evitació Activa d'Un Sentit i</i> <i>Evitació Passiva</i>	116
2.1.2.3. <i>Altres Tipus d'Aprenentatges Aversius</i>	118
2.1.2.4. <i>Condicionament Clàssic</i>	120
2.1.2.5. <i>Aprenentatges Apetitiu</i>	121
2.1.3. Consideracions i Conclusions dels Efectes de les Lesions del Parafascicular	124
2.2. ESTUDIS AMB ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA DEL NUCLI PARAFASCICULAR	126
2.3. CONCLUSIONS FINALS SOBRE LA RELACIÓ ENTRE EL PARAFASCICULAR i L'APRENTATGE i LA MEMÒRIA	130
III. PART EXPERIMENTAL	133
1. INTRODUCCIÓ ALS TREBALLS PRESENTATS: OBJECTIUS i JUSTIFICACIÓ DELS PROCEDIMENTS	135
2. TREBALLS PRESENTATS	141
3. RESUM DELS RESULTATS i DISCUSSIÓ	149
IV. DISCUSSIÓ GENERAL	155
1. EFECTES DE L'ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA DEL PARAFASCICULAR SOBRE L'EVITACIÓ ACTIVA DE DOS SENTITS	157
2. PAPER MODULADOR DEL PARAFASCICULAR SOBRE L'APRENTATGE i LA MEMÒRIA: ACTIVACIÓ DE DIFERENTS SISTEMES FUNCIONALS	162
3. EFECTES DE LA LESIÓ DE L'HABÈNULA SOBRE L'EVITACIÓ ACTIVA DE DOS SENTITS	167
V. CONCLUSIONS GENERALS	171
VI. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES	175
VII. ANNEXES	203

I. PLANTEJAMENT, HIPÒTESIS i OBJECTIUS EXPERIMENTALS

I. PLANTEJAMENT, HIPÒTESIS I OBJECTIUS EXPERIMENTALS

Durant els anys precedents el nostre laboratori ha establert models conductuals de facilitació de l'aprenentatge i la memòria utilitzant principalment el condicionament d'evitació activa de dos sentits, en rates. Hem triat aquesta tasca, entre altres raons, per la seva complexitat i perquè mostra similituds importants amb l'adquisició d'alguns comportaments complexos per part dels humans. Efectivament, tal com succeeix freqüentment en certs aprenentatges en els humans, les rates estan capacitades de manera desigual per a aprendre aquest condicionament; és a dir, alguns animals l'adquireixen amb relativa facilitat, mentre que d'altres necessiten molt més entrenament per a aconseguir-ho, havent-hi rates que fins i tot no l'arriben a aprendre mai (Morgado-Bernal, 1997). És raonable, doncs, assumir que l'evitació activa de dos sentits constitueix un model d'aprenentatge susceptible de ser influït per diferents tractaments facilitadors de l'adquisició i la consolidació de la memòria.

Un dels diversos mètodes de facilitació que hem utilitzat es basa en l'activació del sistema nerviós central (SNC) produïda per l'autoestimulació elèctrica intracranial (AEIC) aplicada postentrenament. Hem posat de manifest que l'AEIC de l'hipotàlem lateral pot millorar l'adquisició i retenció a llarg termini de l'evitació activa de dos sentits, en un aprenentatge distribuït al llarg de cinc dies i també en procediments d'entrenament massiu, tant en rates joves com velles; a més a més, aquest tractament pot accelerar la formació de la memòria, fent que els subjectes que aprenen menys s'igualin a aquells altres que aprenen més (Aldavert-Vera, Costa-Miserachs, Massanés-Rotger, Soriano-Mas,

Segura-Torres i Morgado-Bernal, 1997; Aldavert-Vera, Segura-Torres, Costa-Miserachs i Morgado-Bernal, 1996; Segura-Torres, Capdevila-Ortís, Martí-Nicolovius i Morgado-Bernal, 1988; Segura-Torres, Portell-Cortés i Morgado-Bernal, 1991).

A part de l'AEIC, que és un tractament artificial d'estimulació elèctrica del cervell, el son paradoxal és un altre procés d'activació, però en aquest cas natural, que també ha estat relacionat amb la facilitació de l'aprenentatge i la memòria. En aquest sentit, hem detectat interaccions significatives entre el son paradoxal i l'evitació activa de dos sentits en rates (Portell-Cortés, Martí-Nicolovius, Segura-Torres i Morgado-Bernal, 1989). En primer lloc, vam observar que les rates que aprenien més eren les que mostraven increments significatius de son paradoxal, comparats amb els seus nivells basals, advertint que els màxims augments en l'execució correcta s'esdevenien sovint després de l'increment més alt en son paradoxal. Així mateix, les rates que van mostrar el major increment de son paradoxal van adquirir un nombre d'evitacions significativament més alt que la resta de subjectes. Els nostres resultats experimentals, a l'igual que els d'altres laboratoris que han observat que la privació de son paradoxal disminueix l'adquisició i la retenció, indiquen que aquesta fase del son podria facilitar la consolidació de l'aprenentatge i la memòria.

Hem establert també models de facilitació del mateix tipus d'aprenentatge i espècie animal mitjançant un tractament d'estrès moderat que consisteix en col·locar els animals en unes plataformes envoltades d'aigua (*mètode de la plataforma aïllada*, utilitzat per a produir privació de son paradoxal), encara que en aquest cas amb un diàmetre suficientment gran com per no privar-los de son paradoxal. Aquests experiments han suggerit que l'arousal produït per aquest

procediment pot millorar l'adquisició del condicionament quan s'avaluen tasques complexes (Coll-Andreu, Martí-Nicolovius i Morgado-Bernal, 1991; Coll-Andreu, Martí-Nicolovius, Portell-Cortés i Morgado-Bernal, 1993; Martí-Nicolovius, Portell-Cortés i Morgado-Bernal, 1988). De la mateixa manera, l'administració sistèmica d'adrenalina postentrenament facilita l'evitació activa de dos sentits en procediments d'entrenament distribuït i massiu (Costa-Miserachs, Portell-Cortés, Aldavert-Vera, Torras-Garcia i Morgado-Bernal, 1993, 1994; Torras-Garcia, Portell-Cortés, Costa-Miserachs i Morgado-Bernal, 1997). Per tant, és possible que les hormones com l'adrenalina, alliberades en la sang durant estats de cert estrès o d'arousal, puguin influir també en els mecanismes neurals de la consolidació de l'aprenentatge, encara que potser de manera més lenta i complementària a l'activació del SNC.

Els experiments anteriors mostren que l'activació de sistemes neurals que faciliten l'aprenentatge i la memòria pot tenir lloc de diverses formes: 1) cíclica i espontàniament (ritmes biològics), 2) induïda per l'entrenament, la situació o l'estat conductual dels individus, i 3) produïda artificialment, mitjançant estimulació cerebral elèctrica o química. Aquesta activació pot ser també induïda directament (activació directa de vies neurals), indirectament (alliberant hormones perifèriques), o simultàniament per les dues maneres. És probable que el moment òptim perquè aquesta activació sigui efectiva coincideixi amb els períodes immediatament posteriors a les sessions d'aprenentatge, és a dir, amb els períodes de consolidació de la memòria. Per tant, el conjunt de totes les dades mencionades ens suggereix que l'AEIC, el son paradoxal i l'estrès moderat postentrenament poden millorar l'aprenentatge i la memòria gràcies a que generen una activació generalitzada del SNC durant els períodes crítics per a la consolidació de la memòria. Si bé aquests i altres procediments tenen les seves pròpies vies nervioses, totes elles podrien estar originant l'activació d'estructures

neurals específiques o de vies que participen en la modulació dels processos d'aprenentatge i memòria. En suport d'aquesta hipòtesi, s'ha constatat que tots aquests mètodes donen lloc, en efecte, a arousal i desincronització cortical dels subjectes.

Així doncs, en la nostra opinió, els mecanismes i estructures neurals crítiques per a la modulació de l'aprenentatge i la memòria podrien ser comuns a diferents procediments de facilitació, naturals o artificials, i, a més a més, coincidir o relacionar-se amb els sistemes participants en la vigília i en els estats d'arousal cortical i conductual. Si fos així, podríem suposar que les mateixes estructures podrien intervenir tant en l'adquisició de l'aprenentatge com en la consolidació de la memòria de diferents tipus de tasques. L'existència d'un substrat neurofisiològic modulador de l'aprenentatge i la memòria comú a molts procediments té els seus antecedents en la hipòtesi de Penfield (Penfield, 1958; citat a Thompson, Crinella i Yu, 1990a). Aquest autor proposava que el cervell humà conté un sistema *centrencefàlic* inespecífic capaç de controlar l'activitat de mecanismes corticals i subcorticals especialitzats en la formació de la memòria. Més recentment, s'ha suggerit (Thompson *et al.*, 1990a) l'existència, en el cervell de la rata, d'un mecanisme subcortical inespecífic que participaria en l'adquisició i retenció de diferents tipus de tasques d'aprenentatge (l'anomenat sistema general d'aprenentatge) i que tindria els ganglis basals com a centre del sistema.

Partint d'aquest plantejament, els millors candidats per a formar part d'aquest substrat modulador semblen ser les estructures que constitueixen un lloc de confluència neuroanatòmica en relació amb les estructures involucrades en els processos bàsics de l'aprenentatge i la memòria i en els tractaments facilitadors, com per exemple els nuclis intralaminars. El **nucli parafascicular del tàlem**

(PF), o *complex centremitjà-parafascicular (CM-PF)* en primats, podria ser una estructura integrant de l'esmentat substrat perquè compleix una sèrie de condicions que ens el presenten com a un bon candidat. En aquest sentit, pertany als intralaminars i està situat en una posició estratègica al mig del cervell, i a més a més està relacionat amb diferents sistemes funcionals que participen en els mecanismes d'activació general del cervell: el sistema reticular activador ascendent (SRAA), el cicle son-vigília i el sistema ganglis basals-talamocortical.

La participació del PF en el SRAA ve avalada per estudis neuroanatòmics, neuroquímics, electrofisiològics i clínics (vegeu apartat 1.5.1.). Pel que fa a les connexions, el PF rep importants inputs colinèrgics de nuclis troncoencefàlics, com els tegmentals, els quals pertanyen a la formació reticular (p.ex. Bolton, Cornwall i Phillipson, 1993; Grunweg, Krein i Krauthamer, 1992). Aquests nuclis estan relacionats amb diferents processos: a) en la iniciació del son paradoxal, a través de projeccions descendents; i b) en la facilitació de la transmissió sensorial i el bloqueig de l'activitat talamocortical rítmica, que es produeixen durant els estats de desincronització cortical com la vigília i el son paradoxal, a través de projeccions ascendents al tàlem (Semba, Reiner i Fibiger, 1990; Steriade, Datta, Paré, Oakson i Curró Dossi, 1990). Però al PF no només li arriben fibres provinents de nuclis tegmentals sinó que també en rep del locus coeruleus, de la substància negra (SN) i del nucli dorsal del rafe (Cornwall i Phillipson, 1988; Sim i Joseph, 1992), tots ells molt relacionats amb els sistemes d'arousal, així com amb les vies del dolor (Qiao i Dafny, 1988), les quals activen de manera important el cervell quan són estimulades. Segons alguns investigadors, els processos de modulació del dolor, amb els quals sembla estar relacionat el PF, podrien participar en els processos d'activació. En aquest sentit, Barker (1988) va suggerir que els inputs nociceptius condueixen sempre a un procés d'atenció i que les cèl.lules que responen a inputs de dolor (com les del

PF) podrien tenir importància en la selecció d'informació. D'altra banda, els estudis sobre activitat neuronal mostren que l'estimulació dels intralaminars, entre ells el PF, és capaç de produir activació o arousal (per revisió, vegeu Paré, Smith, Parent i Steriade, 1988) i suggereixen que podrien ser essencials per a coordinar l'activitat entre diferents àrees de l'escorça per tal de contribuir a la formació de percepcions globals d'estímuls complexos (Steriade, 1996). Tota aquesta informació ha portat a considerar el PF com a un component dels sistemes que participen en el relleu de la informació, depenent de l'estat o el context, que es dirigeix cap a centres superiors.

Quant a les relacions del CM-PF¹ amb el sistema dels ganglis basals (vegeu apartat 1.5.2.), aquest complex talàmic rep fibres de diferents estructures d'aquest sistema incloent-hi molts inputs del segment intern del globus pàl·lid (GPi) i inputs més modestos de la SN i de l'estriat. Considerant aquestes aferències així com les ben conegudes i extenses eferències a l'estriat, al nucli subtalàmic (NST) i al globus pàl·lid (GP), el CM-PF sembla estar lligat molt íntimament a les funcions dels ganglis basals i se'l pot considerar com una part d'aquest sistema (Kincaid, Penney, Young i Newman, 1991; Parent, 1990). Els darrers treballs que estudien la relació del CM-PF amb els ganglis basals s'han centrat en les projeccions i possibles funcions diferencials de les dues regions que componen el complex: el CM (o part lateral del nucli parafascicular -PFl- en la rata) i el PF (o part medial del nucli parafascicular -PFm- en la rata). Aquests estudis han mostrat que el CM i el PF participen de manera altament ordenada i complementària en el processament paral·lel de la informació que flueix a través dels ganglis basals, és a dir, modulen selectivament l'activitat de circuits ganglis basals-talamocorticals específics: el PFl constitueix un enllaç crucial en el circuit

¹ La majoria d'estudis que relacionen el PF amb els ganglis basals han estat realitzats amb *primats*, per això ens referim al complex *CM-PF*.

sensoriomotor, mentre que el PFm és un relleu important en la circuiteria oculomotora, associativa i límbica dels ganglis basals (Alexander i Crutcher, 1990; Berendse i Groenewegen, 1991). Malgrat el fet que el PFl i el PFm participin en funcions diferenciades, això no exclou la possibilitat, o fins i tot la necessitat, que en certs estats conductuals aquestes dues parts actuïn de manera coordinada. Recentment, s'ha suggerit que els nuclis de la línia mitja i els intralaminars podrien actuar conjuntament per a conduir el sistema ganglis basals-talamocortical a un nivell d'activitat més alt, és a dir, a un estat de preparació o disponibilitat dels circuits cerebrals (Groenewegen i Berendse, 1994).

D'altra part, el PF es relaciona amb el substrat nerviós del reforç (vegeu apartat 1.5.4.) ja que existeixen connexions entre aquest nucli i zones que eliciten la conducta d'AEIC: àrees corticals, hipotàlem lateral, accumbens, àrea tegmental ventral, etc. (Clavier i Gerfen, 1982; Vives, Gayoso, Osorio i Mora, 1983). A més a més, s'observen canvis en l'activitat de neurones del tàlem medial (on es troba el PF) associats a l'estimulació elèctrica del feix prosencefàlic medial (FPM) (Casey i Keene, 1973; Keene, 1973a,b; Keene i Casey, 1973). Finalment, s'ha demostrat que l'estimulació del propi PF pot provocar la conducta d'AEIC (Clavier i Gerfen, 1982; Vachon i Miliareisis, 1992; Zacharko, Kasian, Irwin, Zalzman, LaLonde, MacNeil i Anisman, 1990).

En relació amb la participació del PF en processos d'aprenentatge i/o memòria o en la seva modulació, s'ha vist que aquest nucli es relaciona amb l'hipocamp i el neoestriat, els quals semblen tenir un paper destacat en la consolidació de la memòria. A més a més, existeixen experiments que indiquen que les vies colinèrgiques que s'originen en el tronc de l'encèfal participen en els processos d'aprenentatge i memòria, a part d'en els mecanismes d'atenció i arousal (Dellu, Mayo, Cherkaoui, Le-Moal i Simon, 1991); concretament, són

les projeccions del nucli tegmental pedunculopòntic al tàlem medial (inclòs el PF) les importants en aquests processos (Fujimoto, Yoshida, Ikeguchi i Ogawa, 1990). D'altra banda, les característiques de les neurones del PF, amb unes dendrites llargues i poc ramificades que reben moltes aferències sinàptiques, juntament amb la distribució dels seus axons en regions ben definides dels ganglis basals i de l'escorça cerebral, suggereixen que aquestes neurones són capaces d'integrar molts inputs i de dirigir el seu output a conjunts específics de neurones (Deschênes, Bourassa, Doan i Parent, 1996). Degut a això, el PF pot ser útil per a la integració de funcions complexes, com la que es necessita en les tasques associatives, éssent així un possible component dels mecanismes de modulació de l'aprenentatge i la memòria.

Tot i que les dades anteriors impliquen el PF en els processos d'aprenentatge i memòria, aquesta relació ha estat poc investigada (vegeu apartat 2 de la secció II). La literatura clínica suggereix que les lesions en el CM-PF poden produir amnèsia, entre d'altres símptomes (Mori, Yamadori i Mitani, 1986; Parkin, Rees, Hunkin i Rose, 1994), i relaciona aquest complex amb malalties neurològiques o psiquiàtriques que presenten alteracions cognitives i de la memòria (Heinsen, Rüb, Gangnus, Jungkunz, Bauer, Ulmar, Gethke, Schüler, Böcker, Eisenmenger, Götz i Strik, 1996). La majoria d'experiments amb animals s'han realitzat estudiant els efectes de les lesions del nucli sobre l'adquisició i la retenció de diferents tipus de tasques, encara que alguns treballs les han utilitzat com a model per a avaluar els efectes de tractaments farmacològics. En general, els resultats indiquen que la integritat del tàlem medial es necessària per a l'expressió normal d'una gran varietat de tasques en la rata. Les lesions específiques del CM-PF deterioren diferents aprenentatges, sobretot els d'evitació, com l'evitació activa de dos sentits (Delacour, 1971; Guillazo-Blanch, Martí-Nicolovius, Vale-Martínez, Gruart-Massó, Segura-Torres

i Morgado-Bernal, 1995) i l'evitació de salt (Thompson, 1963; Van Wimersma Greidanus, Bohus i De Wied, 1974) i també alguns aprenentatges complexos, com la resolució de problemes que impliquen una discriminació vestibular-propioceptiva-cinestèsica (Thompson, Huestis, Crinella i Yu, 1990b). A més a més, el PF sembla ser el lloc on actuen alguns pèptids per tal de facilitar la consolidació de la memòria ja que l'administració d'aquests pèptids en animals amb lesió del PF no produeix els seus efectes beneficiosos sobre la memòria (Bohus i De Wied, 1967; Van Wimersma Greidanus *et al.*, 1974). En canvi, el PF no sembla indispensable per a establir l'aprenentatge d'evitació activa d'un sentit perquè l'administració d'amfetamina o un entrenament addicional postlesió fan reaparèixer el condicionament abans abolit per les lesions del nucli (Cardo, 1965; Roberts, 1991). Tampoc ho és per als aprenentatges apetitius ja que el possible efecte negatiu de les lesions és revertit amb sessions addicionals de condicionament (Delacour, Albe-Fessard i Libouban, 1966). En un context més general, tot això ens indica que el PF no sembla ser imprescindible per a l'adquisició d'aprenentatges sinó que podria representar més aviat una estructura, l'activitat de la qual serveix per a modular l'adquisició i/o la consolidació dels mateixos.

Pel que fa als efectes de l'estimulació elèctrica del PF sobre l'aprenentatge i la memòria, aquests, a part d'haver estat menys estudiats, a més a més són controvertits ja que s'han trobat efectes deteriorants i facilitadors. Això es podria explicar si considerem que aquests estudis s'han dut a terme amb diferents espècies animals, diferents moments d'aplicació de l'estimulació i diferents tipus de tasca d'aprenentatge (Cardo, 1967; Guillazo-Blanch *et al.*, 1995; Wilburn i Kesner, 1972).

En el nostre laboratori també hem obtingut dades que recolzen la hipòtesi de què el PF pot formar part d'un substrat subcortical inespecífic modulador de l'aprenentatge i la memòria. En aquest sentit, vam dissenyar un experiment en el que volíem analitzar si l'estimulació elèctrica intracranial del PF podia millorar l'adquisició i/o la retenció d'una tasca d'evitació activa de dos sentits, distribuïda en 5 sessions de 10 assaigs cadascuna més una sessió de retenció de 10 assaigs al cap de 10 dies. Després de cada sessió d'adquisició, dos grups de rates van ser estimulats al PF durant 10 i 5 minuts respectivament; hi havia dos grups més: un que no va rebre mai estimulació i un altre que només va rebre estimulació en les sessions prèvies a l'entrenament (sessions de recerca de l'estimulació òptima, que duraven 20 minuts). Inesperadament, el grup de control que havia rebut estimulació preentrenament va mostrar un deteriorament en l'execució de la tasca comparat amb la resta de grups. Degut a que les anàlisis histològiques van indicar que el pretractament amb estimulació havia produït lesió en el teixit nerviós, vam dissenyar un altre experiment en el que s'avaluaven els efectes de la lesió electrolítica unilateral del PF i de l'estimulació de baixa intensitat sobre la mateixa tasca. Els resultats van mostrar que la lesió preentrenament del PF disminuïa significativament l'adquisició del condicionament d'evitació activa de dos sentits, mentre que l'estimulació elèctrica del nucli no l'afectava; els dos experiments en conjunt suggereixen que l'estimulació pot revertir els efectes negatius de la lesió (Guillazo-Blanch *et al.*, 1995).

D'altra part, hem observat que les lesions bilaterals preentrenament del PF deterioren l'efecte facilitador de l'AEIC postentrenament sobre l'adquisició i la retenció del mateix condicionament i paradigma experimental (Massanés-Rotger, 1997). Per tant, si prenem en conjunt els resultats obtinguts en el nostre laboratori, aquests suggereixen una possible participació del PF en l'adquisició

del condicionament d'evitació activa de dos sentits i en la facilitació de la memòria d'aquest mateix tipus de condicionament mitjançant AEIC.

En aquest context, per a contrastar la hipòtesi de la **participació del PF en un substrat neural modulador dels processos d'aprenentatge i memòria**, en el present treball ens proposem *estudiar i aprofundir la relació existent entre el PF i aquests processos*. Degut a que la tasca d'evitació activa de dos sentits pot ser influïda per l'adequada activació de sistemes neurals que faciliten l'aprenentatge i la formació de la memòria, el nostre principal objectiu consisteix en *analitzar* (en les mateixes condicions experimentals que en els tractaments ja establerts) *si l'estimulació elèctrica de baixa intensitat de diferents regions del PF pot ser un dels procediments capaços de modular els processos de l'aprenentatge i la memòria*. Si això fos així, el PF podria ser considerat com a un nucli relacionat amb un possible substrat neural modulador d'aquests processos.

No obstant, aquest objectiu l'hem d'emmarcar dins d'una idea més àmplia, ja que el nostre interès general és identificar i descriure sistemes cerebrals relacionats amb la facilitació d'aprenentatges i de memòries complexes. El coneixement d'aquests sistemes podrà contribuir al desenvolupament de procediments que optimitzin la recuperació de memòria normal i a la promoció d'un millor funcionament de la memòria en individus amb una baixa capacitat d'aprenentatge i/o amb patologies de la memòria, és a dir, amnèsies i trastorns neurodegeneratius, com ara la malaltia d'Alzheimer.

II. MARC TEÒRIC i ANTECEDENTS EXPERIMENTALS

1. NUCLI PARAFASCICULAR: CARACTERÍSTIQUES GENERALS

1.1. LOCALITZACIÓ i MORFOLOGIA

El tàlem de la rata, igual que el d'altres mamífers, es descriu com una estructura ovoide que consisteix en diferents grups cel·lulars (Price, 1995), localitzada en la part dorsal del diencèfal i interposada entre el tronc de l'encèfal i el prosencèfal (Steriade, 1987). S'han considerat diverses subdivisions del tàlem, que ja daten des dels inicis del segle XIX. Els estudis descriptius de les primeres dècades del nostre segle van reconèixer de 30 a 35 nuclis anomenats segons les seves coordenades topogràfiques (Steriade, 1987). En general, es defineixen almenys tres tipus de nuclis (Jones, 1985; Steriade, 1987): els "principals" o de relleu (anterior, medial, lateral i ventral), que estan separats per les branques de les fibres mielíniques que formen la làmina medul·lar interna; els intralaminars, que es troben dins de la làmina medul·lar interna; i el nucli reticular talàmic (NRT), que consisteix en una fina làmina de neurones que envolta lateralment el tàlem. Es considera que els nuclis de relleu projecten informació des dels principals sistemes sensorials i motors fins a àrees restringides de l'escorça cerebral, mentre que els intralaminars ho fan de manera substancial cap els ganglis basals i l'escorça cerebral, presentant les seves projeccions uns patrons laminars diferents als dels nuclis principals. Per últim, el NRT està recíprocament connectat amb la resta de nuclis talàmics, però no projecta directament a l'escorça cerebral. No obstant això, una classificació tan simple i només basada en les relacions amb la neocorça no és suficient per a explicar tota la varietat de nuclis talàmics (Price, 1995).

Els termes *nuclis intralaminars* o *nuclis de la làmina medul.lar interna i parafascicular* van ser introduïts per Vogt i Friedemann a principis de segle en base als seus treballs amb primats. Un altre terme utilitzat per a definir estructures intralaminars va ser *nuclis intermediaris*, dins dels quals es va incloure el PF com a nucli *intermediari caudal* (Stefens i Droogleever-Fortuyn, 1953; citat a Macchi i Bentivoglio, 1986). Per bé que diferents autors han adoptat diverses nomenclatures, els nuclis intralaminars es reconeixen en totes les espècies de mamífers i han estat classificats en rostrals i caudals (Groenewegen i Berendse, 1994; Macchi i Bentivoglio, 1986).

Els components del complex intralaminar rostral són el nucli central-medial (CeM), el paracentral (PC) i el central-lateral (CL). El grup de nuclis caudals consisteix en el nucli PF en les rates, el qual és el més posterior de tots, o el complex CM-PF en els primats i altres mamífers. Filogenèticament, els intralaminars rostrals representen un grup constant de nuclis (Groenewegen i Berendse, 1994), però no succeeix el mateix en els caudals ja que si bé el nucli PF es reconeix en tots els mamífers, un nucli CM ben diferenciat apareix més tard en l'escala evolutiva i va augmentant de tamany de forma paral.lela al desenvolupament del nucli putamen (Sadikot, Parent i François, 1992a). Així doncs, el CM és un nucli gran en primats (assolint el seu màxim desenvolupament en els humans; Royce i Mourey, 1985), mitjà en altres mamífers i es distingeix amb dificultat en petits mamífers com els rosegadors. Per tant, el que es defineix com PF en la rata correspon al complex central o complex CM-PF en primats i gats (Bentivoglio, Minciocchi, Molinari, Granato, Spreafico i Macchi, 1988; Groenewegen i Berendse, 1994; Jones, 1985; Macchi i Bentivoglio, 1986).

A més a més, s'ha establert una subdivisió anatòmica en el PF de la rata i es consideren dues parts del nucli: **PFm**, localitzat medialment en relació al fascicle retroflexus o feix habenulo-interpeduncular (FR), i **PFl**, lateral al FR. Segons diversos investigadors (Aldes, 1988; Berendse i Groenewegen, 1991; Deschênes *et al.*, 1996; Fénelon, François, Percheron i Yelnik, 1991; Jayaraman, 1985; Kincaid *et al.*, 1991; Macchi i Bentivoglio, 1986), el PFm en rates correspon al PF en animals que tenen un nucli CM ben diferenciat com els primats o els gats -Fénelon *et al.* (1991) l'anomenen *pars parafascicularis*-, mentre que el PFl en rates es considera l'equivalent de la part "magnocel.lular" dorsomedial del CM en primats o CM en gats -*pars media*, segons Fénelon *et al.* (1991)-. La part "parvocel.lular" ventro-lateral del CM en primats -*pars paralateralis*- seria el veritable CM i sembla ser específica dels primats (Fénelon *et al.*, 1991). La subdivisió citoarquitectònica del complex CM-PF en humans constitueix encara un punt de discussió, ja que alguns autors reconeixen dues parts, mentre que d'altres en distingeixen tres (Heinsen *et al.*, 1996). No obstant, en el que tots els investigadors coincideixen és en què els límits entre el PF i les parts més laterals són poc precisos i no hi ha transicions brusques.

En seccions coronals del cervell de la rata (figura 1.1,1), la regió més anterior del PF és petita, i s'aprecien només les parts dorsal i ventral del nucli; la primera limita dorsalment amb el FR, mentre que l'altra té forma triangular i apareix latero-ventral al FR sense limitar amb ell. La regió central del PF és la més gran, té forma quadrangular i envolta tant medial com lateralment el FR, el qual divideix clarament el nucli en les dues parts ja esmentades: medial i lateral; en una visió sagital (figura 1.1,2) es veu aquesta regió central amb forma de mitja lluna. La regió més posterior del PF envolta dorsalment el FR, el qual apareix més petit i més ventral que en seccions anteriors. Per tant, és difícil de distingir una part medial d'una lateral en la regió més caudal del nucli.

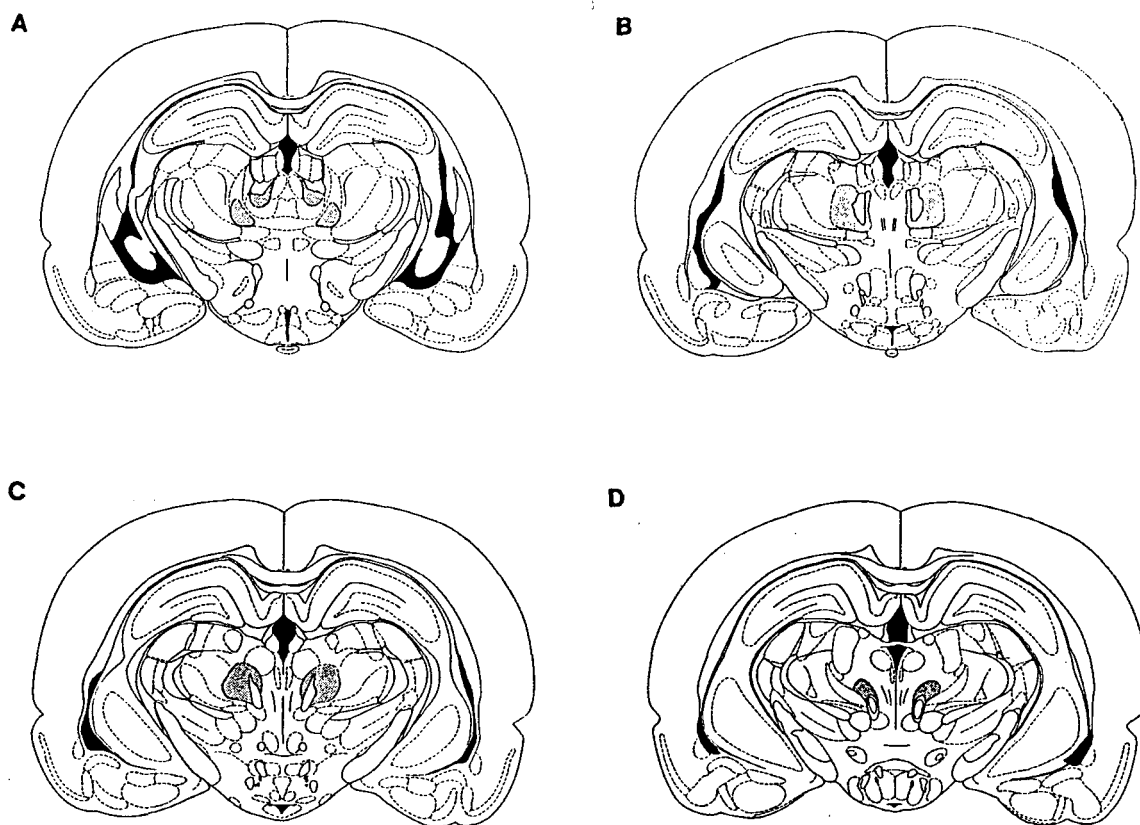


Figura 1.1,1. Esquemes de seccions coronals del cervell de la rata en les que s'indica la localització del nucli parafascicular del tàlem (destacat en gris) al llarg de l'eix antero-posterior. Els esquemes A, B, C i D corresponen, respectivament, a les seccions -3.80, -4.16, -4.30 i -4.52 mm posteriors a bregma. Adaptat de Paxinos i Watson (1986).

El PF limita dorsalment amb el nucli habenular lateral, els nuclis laterals posteriors del tàlem, el nucli precomissural i l'àrea pretectal; ventralment amb el complex parvocel.lular posterior; lateralment amb el complex nuclear posterior del tàlem; i medialment amb el sistema de fibres periventriculars (Paxinos i Watson, 1986). En la seva part més rostral, el PF acaba en punta formant una petita extensió dins de la làmina medul.lar interna i limita amb els nuclis CL i mediodorsal. El límit posterior del PF es reconeix més fàcilment en seccions horitzontals i sagitals que en seccions coronals; aquesta regió limita amb el nucli pretectal anterior, el nucli de la comissura posterior i estructures mesencefàliques adjacents, i és la regió que marca la frontera meso-diencefàlica (Faull i Mehler, 1985).

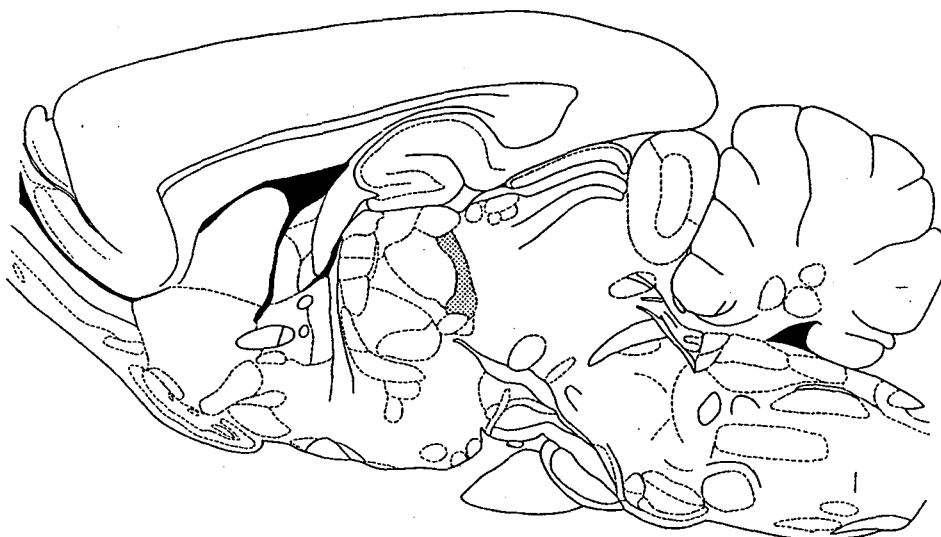


Figura 1.1,2. *Esquema d'una secció sagital del cervell de la rata on s'indica la localització del nucli parafascicular del tàlem, destacat en gris. Correspon a una secció 1.40 mm lateral a bregma. Adaptat de Paxinos i Watson (1986).*

Topogràfica i citològicament, el PF està molt relacionat amb el nucli subparafascicular (SPF). De fet, els límits entre la regió caudal del PF i el SPF no són massa estrictes, tal i com s'observa en tincions de Nissl, sinó que més aviat representen una zona borrosa de transició (Sadikot *et al.*, 1992a). En la rata, el SPF s'estén des de la part lateral de la regió posterior del PF fins el límit caudo-lateral del diencèfal i apareix ventral al FR i al PF (Kruger, Saporta i Swanson, 1995; Moriizumi i Hattori, 1992). La regió medial del SPF, que limita amb el PF, és clarament complexa i es poden trobar alguns subnuclis; per exemple Paxinos i Watson (1986) defineixen el nucli etmoidal (Eth). Degut a aquestes relacions, alguns investigadors estudien les projeccions conjuntes del PF-SPF o del PF-Eth (Sadikot *et al.*, 1992a; Deschênes *et al.*, 1996).

Pel que fa a l'aspecte de les cèl.lules del PF, els treballs realitzats amb tincions de Nissl mostren que el PF de la rata està format per cèl.lules de tinció fosca i tamany mitjà agrupades densament, les quals envolten el FR (Jones i Leavitt, 1974); no obstant, les cèl.lules del PFm són més petites i més compactes (Faull i Mehler, 1985). En el tàlem posterior de primats i humans, el CM apareix com un grup de cèl.lules clares, localitzades lateralment a les cèl.lules més fosques pertanyents al PF i una mica més petites que aquestes (Macchi i Bentivoglio, 1986; Stepniewska, Preuss i Kaas, 1994a).

Quant a la morfologia de les neurones, els primers treballs, realitzats amb impregnacions Golgi (Scheibel i Scheibel, 1967), van revelar que el complex CM-PF de ratolins, rates, gats i primats contenia un tipus peculiar de neurones grans, poc ramificades, amb branques axonals divergents i amb forma reticular semblant a les que es troben a la formació reticular del tronc de l'encèfal o el NRT. El fet que els intralaminars posteriors de la rata continguessin neurones diferents que les dels nuclis talàmics de relleu no va rebre gaire atenció en estudis

anatòmics i electrofisiològics posteriors fins que recentment Deschênes *et al.* (1996), mitjançant tècniques histoquímiques, van observar que les neurones del PF-Eth en la rata s'assemblaven a les del NRT. Descriuen els seus somes com poligonals o ovoides d'uns 20-25 μm , a partir dels quals emergeixen quatre o cinc dendrites gruixudes, llargues i poc ramificades que presenten espines i apèndixs filamentosos; aquestes dendrites es poden estendre a considerables distàncies (1.5 mm) (vegeu figura 1.1,3).

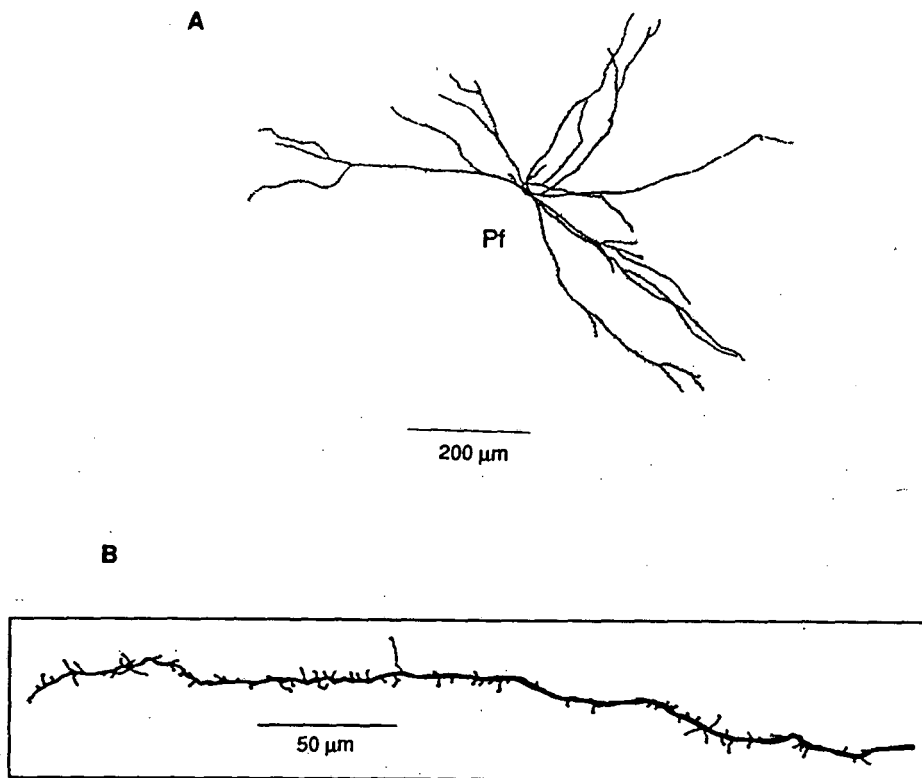


Figura 1.1,3. Dibuix d'una neurona de projecció trobada al PF de la rata. En aquesta figura (A) es pot observar que aquestes cèl.lules tenen escasses dendrites, llargues i poc ramificades. El dibuix B mostra la distribució d'espines i apèndixs que es troben al llarg de la dendrita d'una neurona del PF. Adaptat de Deschênes *et al.* (1996).

Observant els llocs d'injecció indicats en les representacions gràfiques proporcionades pels autors, apreciem que aquestes característiques només poden ser aplicables al PFl. Així doncs, la morfologia d'aquestes neurones de projecció difereix radicalment de les descripcions clàssiques de cèl.lules molt arboritzades amb dendrites curtes (de l'anglès *bushy neurons*), que representen el tipus de neurona principal dels nuclis talàmics sensorials de relleu. A més a més, són molt diferents de les neurones petites Golgi tipus II que formen part de circuits locals, i que havien estat localitzades en la resta del tàlem. No obstant això, altres treballs (Bentivoglio *et al.*, 1988; Hazlett, Dutta i Fox, 1976; Balercia, Kultas-Ilinsky, Bentivoglio i Ilinsky, 1996), indiquen que en el CM dels gats i dels primats es poden trobar interneurons petites de circuit local, a part de les neurones de projecció descrites anteriorment. D'altra banda, Tseng i Royce (1986), amb tincions de Golgi, van trobar un altre subgrup de neurones en el CM del gat: neurones molt arboritzades que presenten somes de tamany intermedi entre neurones principals (descrites abans com neurones de projecció) i neurones Golgi tipus II.

Com a conclusió, podem dir que en els diferents estudis s'han pogut localitzar tant cèl.lules de projecció com interneurons en els nuclis intralaminars, de manera que l'activitat del CM-PF (sobretot del CM) podria estar regulada per mecanismes intrínsecs similars als que operen en els nuclis del tàlem anomenats principals o de relleu (Tömböl, Bentivoglio i Macchi, 1990).

1.2. RELACIONS ANATÒMIQUES

1.2.1. Els Intralaminars: Nuclis "Específics" o "No específics"?

Els nuclis intralaminars i els de la línia mitja (situats a la substància blanca existent entre els dos tàlems) han estat unificats històricament en la mateixa entitat i encara avui dia existeixen investigadors que els tracten com un sol grup (Paxinos, 1995). Això es deu a que comparteixen característiques anatòmiques, com ara la innervació per part del tronc de l'encèfal i les connexions amb els ganglis basals. Fins fa pocs anys els nuclis de la línia mitja i els intralaminars han estat considerats com les parts principals de l'anomenat sistema activador talamocortical "no específic" o difús, mentre que els nuclis talàmics de relleu s'han considerat com "específics". Per exemple, Scheibel i Scheibel (1967) utilitzen indistintament en els seus treballs els termes *no específic*, *difús* i *intralaminars*. Aquesta concepció es basa en arguments electrofisiològics, morfològics i neuroanatòmics. Els electrofisiològics daten dels anys 40 i es basen en els treballs pioners de Dempsey i Morison (citats a Groenewegen i Berendse, 1994). Aquests investigadors van observar que l'estimulació elèctrica de nuclis "específics" talàmics en gats provocava respostes de curta latència en àrees circumscrites de l'escorça cerebral, i que l'estimulació dels nuclis "no específics" donava lloc a canvis de llarga latència en l'activitat d'àmplies àrees de l'escorça. A més a més, es va constatar que l'estimulació dels nuclis "no específics" amb corrent elèctric de baixa freqüència produïa un tipus de respostes anomenades respostes de reclutament (de l'anglès *recruiting responses*) que s'estenien per àmplies àrees corticals, i van ser associades amb inatenció i son. En canvi, l'estimulació d'alta freqüència produïa una desincronització de l'electroencefalograma (EEG) cortical i una activació concomitant. Els

intralaminars van ser considerats aleshores com una porta a l'escorça que estava oberta durant la vigília i tancada durant el son (Marini i Tredici, 1995).

D'altra banda, l'estudi morfològic de Scheibel i Scheibel (1967) va mostrar que una bona part de les cèl.lules intralaminars presentava axons amb moltes col.laterals; això va fer pensar que eren molt adients per a una dispersió de la informació, contrastant amb els axons pobres en col.laterals de les cèl.lules dels nuclis "de relleu" adjacents. Els estudis amb traçadors neuroanatòmics també recolzaven el concepte de nuclis "no específics" ja que van mostrar que les fibres eferents s'estenien extensament pel còrtex cerebral i l'estriat (Jones i Leavitt, 1974). Així doncs, es va creure durant molt de temps que les fibres intralaminars es distribuïen sobre l'escorça de manera semblant a l'acabament de les fibres talàmiques "no específiques" proposada per Lorente de Nó (1938; citat a Bentivoglio, Balercia i Kruger, 1991a) en base als seus estudis amb impregnacions de Golgi en cervells de rosegadors. Aquest històleg va descriure dos tipus de projeccions talamocorticals en funció de la seva distribució en les diferents capes corticals: fibres "específiques" caracteritzades per una arborització densa en la capa IV amb projecció restringida, i fibres "no específiques" que presentaven projeccions extenses i diversificades amb terminacions difuses en la capa I (Lorente de Nó; 1938 citat a Bentivoglio, Balercia i Kruger, 1991a). Finalment, l'organització de les aferències i eferències dels nuclis intralaminars també va proporcionar dades a favor de la seva no especificitat degut a que, a part de rebre informació de la formació reticular mesencefàlica (FRM), en general van ser considerades com molt heterogènies.

Malgrat tot l'exposat fins ara, més recentment s'ha posat en dubte el concepte de "no especificitat" degut a que es basa en una concepció dels nuclis intralaminars com a grup únic (Jones, 1985); pel contrari, si es tracta cada nucli

individualment s'observa que, a part d'un input col·lectiu des de la formació reticular, les aferències per a cada nucli són diferents (Groenewegen i Berendse, 1994), les projeccions a l'escorça i a l'estriat són restringides, específiques i ordenades topogràficament (Berendse i Groenewegen, 1991; Deschênes *et al.*, 1996; Macchi i Bentivoglio, 1986; Steriade, 1987) i, fins i tot, la distribució laminar en l'escorça no és la mateixa per a tots els intralaminars (Ullán, 1985). A més a més, els processos en els quals participen els intralaminars són específics per a cada nucli. Per exemple, en primats el nucli CM està connectat amb àrees corticals motores i pre-motors, mentre que el PF està principalment relacionat amb regions corticals límbiques i associatives; així mateix, es coneix que el CM i el PF envien projeccions massives que arboritzen, respectivament, en els territoris sensoriomotor i associatiu-límbic de l'estriat (Sadikot *et al.*, 1992a). D'altra banda, l'especificitat dels nuclis intralaminars caudals es veu reforçada amb les darreres troballes en mones que indiquen que dins de la regió sensorio-motora de l'estriat, el CM innerva neurones que projecten preferentment al GPi, més que a neurones de l'estriat sensorio-motor que connecten amb el segment extern del globus pàl·lid (GPe) (Sibidé i Smith, 1996).

Així doncs, el terme "no específic", encara que ha caigut en desús, ha deixat molta confusió i la impressió de què el tàlem prèviament anomenat "no específic" és un territori complex. Per tant, cal reconsiderar definitivament la dicotomia clàssica entre els dos sistemes talamocorticals i admetre que els intralaminars o els nuclis de la línia mitja no són tan inespecífics, en les seves connexions aferents i eferents, com s'havia arribat a assumir. En conclusió, si bé el complex de nuclis intralaminars podria tenir una funció global en el sistema ganglis basals-talamocortical, cada nucli individual podria interaccionar selectivament amb circuits funcionalment diferents dins d'aquest sistema (Groenewegen i Berendse, 1994).

1.2.2. Projeccions Aferents i Eferents

Les connexions dels nuclis intralaminars han representat un dels problemes més debatuts dins de l'organització del sistema talamocortical i van ser difícils d'establir fins l'aparició de tècniques de traçadors altament sensibles. Durant la primera meitat del segle XX, en base a tècniques de degeneració, es va pensar que els intralaminars estaven connectats amb els ganglis basals o bé amb el rinencèfal, i que eren relativament independents de la neocorça (per revisió, vegeu Groenewegen i Berendse, 1994). Jones i Leavitt (1974) van demostrar, utilitzant el traçador retrògrad peroxidasa del rave (HRP), que els intralaminars no enviaven projeccions únicament als ganglis basals, sinó també a l'escorça cerebral. Avui en dia es considera que els intralaminars com a grup projecten principalment cap a les parts rostrals de l'escorça cerebral, incloent-hi les àrees frontals i parietals (Berendse i Groenewegen, 1991). Tal com s'exposarà seguidament, el PF envia principalment informació a àrees restringides del còrtex i als ganglis basals. Amb aquests resultats es va poder entendre la influència que tenien els intralaminars sobre l'activitat cortical.

Pel que fa a les aferències, els nuclis intralaminars rostrals en conjunt (CeM, PC i CL) reben inputs subcorticals procedents de la medulla espinal, dels nuclis cerebel·losos profunds i de certes estructures del tronc de l'encèfal (Bentivoglio *et al.*, 1988). En canvi, els posteriors reben inputs principalment del nucli entopeduncular (o GPi en primats), d'àrees mesencefàliques, com la formació reticular (Bentivoglio *et al.*, 1988) i de l'escorça cerebral (Cornwall i Phillipson, 1988; Ullán, 1985). En les figures 1.2,1 i 1.2,2 es representen esquemes de les principals aferències i eferències del nucli PF de la rata.

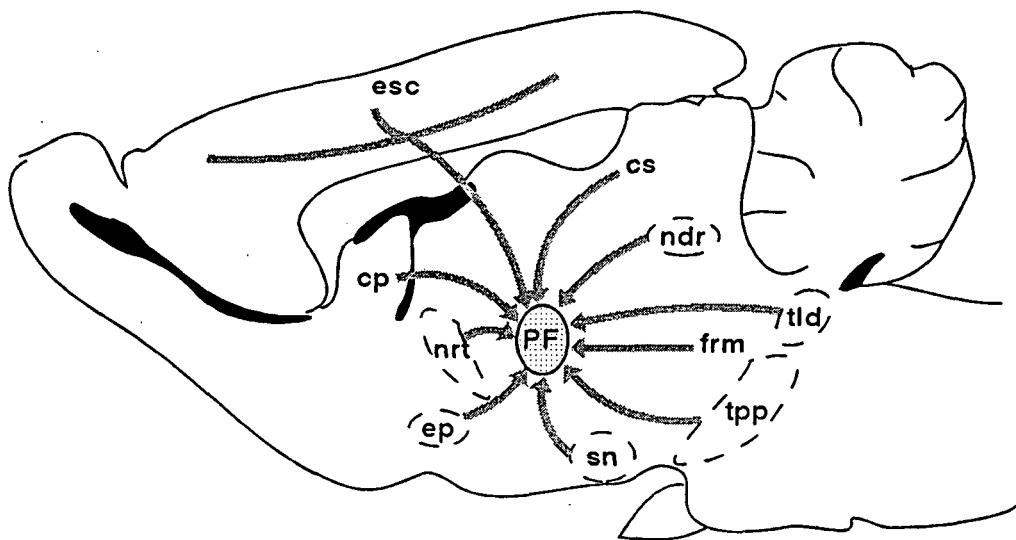


Figura 1.2,1. Esquema que mostra una representació sagital de les principals aferències al nucli PF de la rata. (cp: complex caudat-putamen; cs: col·lícles superiors; ep: nucli entopeduncular; esc: escorça cerebral; frm: formació reticular mesencefàlica; ndr: nucli dorsal del rafe; nrt: nucli reticular talàmic; PF: nucli parafascicular del tàlem; sn: substància negra; tld: nucli tegmental laterodorsal; tpp: nucli tegmental pedunculopòntic).

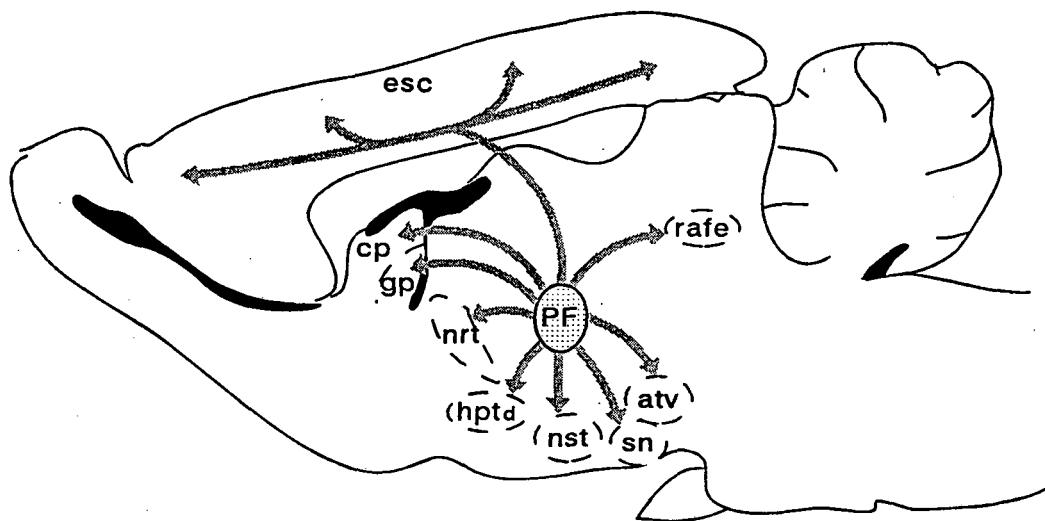


Figura 1.2,2. Esquema que mostra una representació sagital de les principals eferències del nucli PF de la rata. (atv: àrea tegmental ventral; cp: complex caudat-putamen; esc: escorça cerebral; gp: globus pàl·lid; hpta: àrea hipotalàmica dorsal; nrt: nucli reticular talàmic; nst: nucli subtalàmic; PF: nucli parafascicular del tàlem; sn: substància negra).

1.2.2.1. Aferències del Nucli Parafascicular

a. Telencèfal

- *Escorça Cerebral*

Existeixen diferents estudis que mostren que el PF en la rata (o el CM-PF en altres espècies) rep informació cortical de diferents àrees: **escorça prefrontal** (Macchi i Bentivoglio, 1986), **escorça motora** (rata: Cornwall i Philipson, 1988; gat: Velayos, Ojeda i Picó, 1989; primats: per revisió, vegeu Cornwall i Phillipson, 1988), **escorça somatosensorial primària i secundària** (per revisió en gat i primat, vegeu Macchi i Bentivoglio, 1986), etc.

Quant a l'organització de les projeccions, sembla ser que les fibres corticotalàmiques es distribueixen de forma contralateral (Macchi i Bentivoglio, 1986). A més a més, Velayos *et al.* (1989) van demostrar que el CM rep més projeccions corticals que el PF, i que les fibres que provenen d'àrees motores i premotors (en la profunditat del solc cruciatus, el qual dóna origen a la major part de fibres de la via piramidal) estan dirigides principalment al CM.

D'altra banda, ja des dels estudis de degeneració cel.lular de principis de segle, existeix unanimitat en situar l'origen de les connexions corticotalàmiques en les capes V i VI de l'escorça (Velayos *et al.*, 1989). Així, Cornwall i Phillipson (1988), utilitzant aglutinina de germen de blat com a marcador retrògrad, van trobar aferències al PF de la rata provinents de neurones de les làmines V i VI de l'escorça motora primària, de la làmina VI de l'escorça somatosensorial primària i de làmines profundes de l'escorça gustatòria. Un estudi en gats de Royce (1983) coincideix amb l'anterior i conclou que les

neurones piramidals de les capes V i VI de regions corticals específiques projecten al CM-PF; aquest treball, però, aporta una dada nova i és que algunes d'aquestes cèl.lules del còrtex (les del vessant ventral del solc cruciatus) també projecten al nucli caudat.

- *Ganglis Basals*

La principal aferència subcortical al PF en rates deriva del **nucli entopeduncular**, el qual representa la principal via de sortida dels ganglis basals (Finkelstein, Reeves i Horne, 1996); en concret, s'han observat inputs ipsilaterals des de la part rostral del nucli entopeduncular (Ahlenius, 1978; Carter i Fibiger, 1978; Cornwall i Phillipson, 1988). Els estudis anteriors fan referència al PFI (tal com s'aprecia en les representacions que presenten) i són consistents amb les troballes en primats (Fénelon *et al.*, 1991), on es descriuen projeccions al CM provinents del GPi (equivalent de l'entopeduncular en rates).

A part de la important projecció provinent de l'entopeduncular, s'han descrit aferències menys importants provinents del **caudat-putamen** en la rata (Cornwall i Phillipson, 1988) i s'han trobat projeccions des del GP en gats (equivalent al GPe en primats) al CM (Royce, Bromley i Gracco, 1991), que no han estat observades en primats.

• *Sistema Límbic*²

Molts estudis mostren projeccions de l'**amígdala** a diferents nuclis talàmics i intralaminars, però en el complex CM-PF únicament trobem la descripció d'una projecció provinent de l'amígdala que s'origina exclusivament en el nucli central (Royce *et al.*, 1991).

b. Diencèfal

Diversos investigadors han trobat projeccions del NRT al PF o al complex CM-PF (rata: Cornwall i Phillipson, 1988; Kolmac i Mitrofanis, 1997; gat: Royce *et al.*, 1991). Les regions del NRT que semblen projectar al PF es localitzen tant en la part rostral com en la caudal, a diferència de la resta d'intralaminars (Kolmac i Mitrofanis, 1997). Utilitzant diferents mètodes, s'ha demostrat que el NRT (concretament les porcions rostral i dorsal) projecta al PF de manera estrictament ipsilateral en rates, i això contrasta amb les projeccions bilaterals del NRT a la majoria de nuclis talàmics (Hazrati, Pinault i Parent, 1995). A més a més, en un estudi molt detallat amb marcadors retrògrads en el gat, s'ha trobat que no existeix projecció contralateral del NRT al CM-PF en gats (Royce *et al.*, 1991). No obstant això, en primats s'han trobat projeccions bilaterals del NRT al CM-PF (Hazrati i Parent, 1991; citat a Hazrati *et al.*, 1995), indicant una possible diferència entre espècies.

² Encara que s'utilitzi molt, el terme *límbic* no ha estat exactament definit i s'hauria d'evitar (Kötter i Meyer, 1992).

També s'han descrit projeccions al CM-PF provinents d'altres àrees diencefàliques com el *nucli geniculat ventrolateral* (gat: Royce *et al.*, 1991), la *zona incerta* (Ahlenius, 1978; per revisió en rates i gats, vegeu Cornwall i Phillipson, 1988), els *campus de Forel* (rata: Cornwall i Phillipson, 1988; gat: Royce *et al.*, 1991) i vàries regions de l'*hipotàlem* (rata: Ahlenius, 1978; gat: Paré *et al.*, 1988; Royce *et al.*, 1991).

c. Mesencèfal

Els primers treballs que van relacionar el PF amb la **substància grisa periaqüeductal (SGP)** i la **FRM** utilitzaven mètodes de degeneració i electrofisiològics (per revisió vegeu Carstens, Leah, Lechner i Zimmermann, 1990) i van trobar connexions en la rata, el gat i els primats. Més endavant, mitjançant mètodes histoquímics, Cornwall i Phillipson (1988) van observar que un gran nombre de cèl·lules de la FRM i algunes de la SGP projectaven directament al PF de la rata. Un estudi recent sobre les projeccions de la SGP, que utilitza la leucoaglutinina de *Phaseolus vulgaris* (PHA-L) com a traçador anterògrad, ens indica que el PF rep fibres específicament de la subregió ventrolateral de la SGP (Cameron, Khan, Westlund, Cliffer, Willis, 1995). Pel que fa a la FRM, un estudi autoradiogràfic en gats (Edwards i De Olmos, 1976) també ja havia mostrat connexions entre parts ventrals i medials de la FRM, concretament el nucli cuneiforme, i el CM-PF. Les connexions entre el nucli cuneiforme i el PF semblen ser bilaterals amb preponderància ipsilateral, en rates i gats (Carstens *et al.*, 1990; Comans i Snow, 1981). Hi ha hagut molta confusió sobre els límits i nomenclatura del nucli marginal del *brachium conjunctivum*, el qual és adjacent al cuneiforme. De totes maneres, diversos autors troben

projeccions d'aquest nucli al PF i al CM-PF en la rata i el gat (Cornwall i Phillipson, 1988; Royce *et al.*, 1991).

En la rata, amb estudis histològics i electrofisiològics, s'han trobat fibres en el PF que provenen dels **col·lícles superiors (CS)** (Ahlenius, 1978; Cornwall i Phillipson, 1988; Grunberg i Krauthamer, 1992; Yamasaki i Krauthamer, 1990), concretament de capes intermèdies i profundes, encara que són menys denses que les projeccions trobades en gats (Comans i Snow, 1981; Paré *et al.*, 1988; Royce *et al.*, 1991). En primats també s'ha descrit aquesta connexió (per revisió, vegeu Royce *et al.*, 1991).

En rates, gats i primats s'han observat projeccions des del **pretectum**, el qual és adjacent als CS (Cornwall i Phillipson, 1988; Paré *et al.*, 1988). Royce *et al.* (1991) van mostrar que aquestes fibres s'originen en els nuclis pretectals anterior i posterior.

En relació amb la SN, s'ha observat que projecta al PF en rates i gats (rata: Carstens *et al.*, 1990; gat: Comans i Snow, 1981; Paré *et al.*, 1988), però no en primats. Concretament, s'han demostrat inputs ipsilaterals des de la part reticulada de la SN (SNr) al PFI (Ahlenius, 1978; Cornwall i Phillipson, 1988; Gerfen, Staines, Arbuthnott i Fibiger, 1982) en la rata; en gats, en canvi, semblen provenir de quatre subdivisions: pars reticularis, pars lateralis, àrea tegmental ventral i àrea retrorubral (Royce *et al.*, 1991).

d. Metencèfal

• *Protuberància*

Molts investigadors han demostrat que el PF rep aferències dels **nuclis tegmentals**, en especial del *nucli tegmental pedunculopòntic* (rata: Cornwall i Phillipson, 1988; Grunberg *et al.*, 1992; Satoh i Fibiger, 1986; Semba *et al.*, 1990; Woolf i Butcher, 1986; gat: Comans i Snow, 1981; gos: Isaacson i Tanaka, 1986). En gossos s'ha observat que tant neurones colinèrgiques com no colinèrgiques localitzades a l'àrea Ch5 (nucli tegmental pedunculopòntic i tracte tegmental central) projecten al CM i al PF (Isaacson i Tanaka, 1986). Les projeccions del *nucli tegmental laterodorsal* al PF (o CM-PF) són menys denses que les anteriors, i la localització d'aquestes neurones correspon a l'àrea Ch6 (rata: Bolton *et al.*, 1993; Cornwall i Phillipson, 1988; Satoh i Fibiger, 1986; Semba *et al.*, 1990; Woolf i Butcher, 1986; gat: Paré *et al.*, 1988), àrea que sembla enviar col.laterals a nuclis de la línia mitja. Per tant, la font més important d'aferències colinèrgiques al PF prové de neurones Ch5 (mentre que la Ch6 ho és de nuclis medials). El nucli tegmental subpeduncular també envia projeccions al PF en la rata (Cornwall i Phillipson, 1988).

Existeixen molts treballs amb marcadors retrògrads que estudien les projeccions ascendents dels **nuclis del rafe** al PF (per revisió, vegeu Marini i Tredici, 1995). Per exemple, en rates i gats s'ha observat que el PF rep projeccions del nucli dorsal del rafe (Comans i Snow, 1981; Royce *et al.*, 1991; Sim i Joseph, 1993). A més a més, s'han descrit altres projeccions de la protuberància al PF en rates i gats: nuclis trigeminals, nuclis parabraquials dorsal i ventral, locus coeruleus i àrea subcoeruleus (Comans i Snow, 1981; Cornwall i Phillipson, 1988; Paré *et al.*, 1988; Royce *et al.*, 1991). Royce *et al.* (1991)

remarquen que la projecció més extensa i quantitativament més abundant al complex CM-PF en gats prové de la formació reticular, i inclouen la majoria de nuclis d'aquesta regió: mesencefàlics, pontis oralis, pontis caudalis, gigantocel·lular, reticular lateral i ventral, així com regions associades amb ella com són els nuclis cuneiforme, locus coeruleus i parabraqial.

- **Cerebel**

El PF, juntament amb el CL, representa la major zona de projecció dels nuclis del cerebel (Jones, 1985). El primer estudi que va establir inequívocament projeccions des dels nuclis cerebel·losos profunds al PF en la rata va ser el de Cornwall i Phillipson (1988). Aquests investigadors mostren que són contralaterals i parteixen de nuclis com el *medial o fastigial* (vegeu també Angaut, Cicirata i Serapide, 1985), el *cervical lateral* i l'*interpòsit*. En gats i primats no s'han trobat projeccions des dels nuclis del cerebel al PF, però estudis en gats (Sugimoto, Mizuno i Itoh, 1981; Royce *et al.*, 1991) han mostrat fibres cerebel·lotalàmiques dirigides al CM que provenien del fastigial, el dentat i l'*interpositus*.

- e. **Mielencèfal**

- ***Bulb Raquidi***

Fa més de vint anys ja es van descriure, mitjançant mètodes de degeneració, inputs vestibulars al CM en mones i al CM-PF en gats (per revisió, vegeu Shiroyama, Kayahara, Yasui, Nomura i Nakano, 1995). Més recentment

també han estat trobades aquestes connexions en gats (Comans i Snow, 1981; Royce *et al.*, 1991) així com en rates, on el PFI rep aferències de nuclis vestibulars amb predominància ipsilateral (Cornwall i Phillipson, 1988; Shiroyama *et al.*, 1995).

f. Medul·la Espinal

Una de les vies ascendents al CM-PF que ha suscitat més controvèrsies ha estat la que prové de la **medul·la espinal**. Existeixen diversos treballs al respecte en rata, gat i primat (per revisió, vegeu Royce *et al.*, 1991). En un estudi amb HRP en gats, es mostra que en les làmines VI i VII-VIII de les regions C₁ i C₂ de la medul·la espinal s'originen projeccions bilaterals que acaben en el PF (Comans i Snow, 1981).

1.2.2.2. Eferències del Nucli Parafascicular

Alguns aspectes de les projeccions del tàlem en general, i del PF en particular, estan àmpliament acceptats com és el fet que són principalment ipsilaterals i ascendents (Jones, 1985). Uns altres aspectes, però, són més confusos com per exemple les capes corticals a les quals arriba la informació dels nuclis. Malgrat això existeixen ja moltes dades que aclareixen aquest darrer aspecte, tal com veurem en aquest apartat.

a. Telencèfal

• *Escorça Cerebral*

En general s'accepta que l'organització talamocortical és semblant entre tots els mamífers (Höhl-Abrahão i Creutzfeldt, 1991); en aquest sentit, els primers estudis basats en transport axònic mitjançant HRP van confirmar una distribució ipsilateral difusa de fibres intralaminars sobre l'escorça en diferents espècies (p. ex. Jones i Leavitt, 1974). Més tard, amb tècniques de doble marcatge, es va posar de manifest en rates i gats que les projeccions que arribaven a diferents àrees corticals provenien principalment d'axons de diferents cèl.lules dels intralaminars, si bé en el PF es va observar alguna neurona amb doble marcatge (Bentivoglio, Macchi i Albanese, 1981); per tant, les projeccions talamocorticals no són difuses sinó que les cèl.lules, les del PF incloses, presenten una àrea d'innervació preferencial, tal com ja hem avançat en l'apartat 1.2.1.

Els estudis que descriuen projeccions del PF (i del CM), tant amb traçadors retrògrads com anterògrads, cap a l'escorça són consistents i trobem treballs en més d'una espècie animal que mostren que aquest nucli pot innervar zones concretes de diferents àrees corticals: **escorça prefrontal** (rata: Berendse i Groenewegen, 1991; gat: Royce i Mourey, 1985), **escorça motora** (rata: Aldes, 1988; Bentivoglio *et al.*, 1981; Berendse i Groenewegen, 1991; Herkenham, 1980; Marini, Pianca i Tredici, 1996; Ullán, 1985; gat: Bentivoglio *et al.*, 1981; Jones i Leavitt, 1974; Royce i Mourey, 1985; primat: Jones, Wise i Coulter, 1979, citat a Royce i Mourey, 1985; Stepniewska, Preuss i Kaas, 1994b), **escorça parietal** (rata: Berendse i Groenewegen, 1991; Jones i Leavitt, 1974; Marini *et al.*, 1996; Ullán, 1985; gat: Jones i Leavitt, 1974; primat: Cavada,

Compañy, Hernández-González i Reinoso-Suárez, 1995), **escorça occipital** (rata: Berendse i Groenewegen, 1991; Ullán, 1985), **escorça temporal** i les adjacents **insular** i **entorinal** (rata: Berendse i Groenewegen, 1991; Ullán, 1985; primat: Cavada *et al.*, 1995), **escorça límbica** i **cingulada** (rata: Berendse i Groenewegen, 1991; Marini *et al.*, 1996; gat: Royce i Mourey, 1985).

Fins el moment, la distribució de les fibres intralaminars en capes corticals no s'ha entès completament en els rosegadors, malgrat la investigació intensiva amb tècniques de marcatge retrògrad i anterògrad (vegeu Marini *et al.*, 1996). Herkenham (1980) va classificar els nuclis talàmics de la rata segons les capes corticals a les quals projectaven principalment i va considerar que els intralaminars pertanyien a un grup que innervava les capes V o VI o ambdues. Segons aquest autor abans s'havia admès que els intralaminars projectaven a la capa I (recordar la descripció de Lorente de Nó) degut a la proximitat entre aquests nuclis i uns altres que sí que projecten a la làmina I. Quant a l'escorça motora, Royce i Mourey (1985) observen que el PF projecta principalment i de manera topogràfica a les capes I i III d'àrees motores i premotores, en gats. Així doncs, malgrat haver-hi descripcions de projeccions del PF a l'escorça motora tant en rates com en gats, en aquests últims no s'observen fibres en les capes V-VI de l'escorça, mentre que sí que s'observa una innervació densa en la capa III. Això podria estar reflectint que les projeccions talàmiques a la neoescorça siguin diferents entre les dues espècies, i més tenint en compte que el desenvolupament del CM-PF és paral·lel a la filogènia dels mamífers. A més a més, considerant que els intralaminars estan molt lligats a l'estriat, la discrepància observada pot estar relacionada amb el fet que en el gat moltes projeccions corticoestriades s'originen en la làmina III, mentre que en la rata s'originen principalment en neurones de la làmina V.

Berendse i Groenewegen (1991) utilitzant el traçador anterògrad PHA-L van afegir més dades a la qüestió de l'organització laminar de les projeccions del PF en la rata. Van constatar que les eferències corticals del PFl, que són més nombroses que les del PFm, innerven la zona agranular lateral de l'escorça motora i formen quatre bandes situades en les làmines I, IV, V i VI, observant-se una major densitat de projeccions en les capes V i VI. El PFl també envia fibres a la part rostral de l'escorça parietal i troben algunes fibres en la part rostral de l'escorça occipital. Les projeccions del PFm són, fins a cert punt, complementàries a les del PFl. Així, el PFm envia projeccions cap a la zona agranular medial de l'escorça motora, concretament a les làmines I, V i VI, i també cap a la part dorsal de l'escorça prelímbica i l'escorça cingular anterior. A més a més, s'observen unes quantes fibres en les capes profundes del còrtex insular agranular, l'occipital, el peririnal i l'entorinal (Berendse i Groenewegen, 1991). Marini *et al.* (1996) donen un pas més enllà i demostren l'existència de projeccions recíproques entre el PF i neurones piramidals de la capa V del còrtex motor i del cingulat; amb microscopia electrònica observen que els contactes sinàptics són asimètrics i contenen vesícules rodones, suggerint que el PF exerceix una acció excitatòria sobre les esmentades neurones.

Com a conclusió podem dir que les projeccions corticals del PF en la rata presenten tres trets bàsics:

- 1) són predominantment ipsilaterals
- 2) presenten una organització laminar específica
- 3) les projeccions de la part medial i lateral del PF arriben a diferents àrees de l'escorça.

• *Ganglis Basals*

Beckstead (1984) va suggerir que existeixen dos sistemes talamoestriats: un sistema rostral compost per nuclis intralaminars rostrals i nuclis de la línia mitja, i un sistema posterior que correspon als intralaminars posteriors (considera CM, PF i SPF). Cada sistema projecta topogràficament a l'estriat, preservant els tres eixos de coordenades; en aquest sentit, Jones i Leavitt (1974) van observar que les parts més anteriors dels intralaminars estan connectades amb parts més anteriors de l'estriat i les més posteriors amb parts més posteriors de l'estriat, si bé aquesta no és una topografia rígida ja que existeixen zones de solapament (Beckstead, 1984; Royce i Mourey, 1985). Un gran nombre d'estudis anatòmics ha identificat el complex CM-PF com la principal font d'aferències talàmiques a l'estriat en rates, gats i primats (rata: Cesaro, Nguyen-Legros, Pollin i Laplante, 1985; Groenewegen i Berendse, 1994; Hara, Sasa i Takaori, 1989; gat: Beckstead, 1984; Jayaraman, 1985; primat: Fénelon *et al.*, 1991; Giménez-Amaya, McFarland, De las Heras i Haber, 1995; Sadikot, Parent i François, 1990; Sadikot *et al.*, 1992a). En molts d'aquests treballs s'ha observat que les projeccions són principalment ipsilaterals i que el PFl i el PFm (o CM-PF) projecten de manera complementària, és a dir, no hi ha solapament, a territoris estriats. Així, en rates i primats, el PFl (o CM *pars media*) projecta cap a l'estriat sensoriomotor (massivament al putamen i difusament al límit dorsolateral del caudat) i el PFm (o PF), juntament amb el SPF, cap a l'estriat associatiu-límbic (massivament al caudat i putamen rostral i difusament a l'estriat ventral: accumbens i tubercle olfactori). La *pars parolateralis* del CM en primats (que no té equivalent en la rata) no sembla estar relacionada amb l'estriat (Fénelon *et al.*, 1991). Quant a l'estriat ventral, sempre s'havia parlat d'una projecció difusa originada en el PFm, però Giménez-Amaya *et al.* (1995) descriuen importants

projeccions en primats que poden ser explicades degut a que aquests autors van injectar el marcador dins de tot el nucli PF.

Pel que fa al patró de terminació de les fibres en l'estriat, s'ha demostrat en diverses espècies que les projeccions del CM presenten una terminació discontinua formant bandes paral·leles orientades de manera obliqua i que les projeccions del PF acaben formant taques en l'estriat (en anglès *patchy manner*) (rata: Deschênes *et al.*, 1996; Herkenham i Pert, 1981; gat: Royce i Mourey, 1985; Ragsdale i Graybiel, 1991; primat: Sadikot *et al.*, 1990; Sadikot, Parent, Smith i Bolam, 1992b). Quant als compartiments de l'estriat, les dues parts del complex CM-PF projecten a la matriu extraestriosomal (rica en activitat acetilcolinesterasa -AChE-, en cèl·lules calbindina-reactives -CaBP- i NADPH-diaforasa). Un estudi en gats ens mostra, però, que el CM-PF projecta de manera homogènia al compartiment matriu (Ragsdale i Graybiel, 1991), a més de la terminació discontinua que acabem de descriure. En canvi, els estriosomes (àrees amb una alta densitat de receptors opiacis, una baixa activitat d'AChE, CaBP i NADPH-diaforasa) són evitats per les projeccions del PF i el CM-PF. Per tant, les àrees on arriben les projeccions del CM-PF i els estriosomes formen un mosaic intrincat en l'estriat de la rata i d'altres espècies (figura 1.2,3).

Les anàlisis ultraestructurals mostren que les projeccions del PF i del CM-PF formen sinapsis directes amb neurones de projecció de l'estriat i també sinapsis asimètriques amb interneurons colinèrgiques de l'estriat, les quals contacten amb neurones de projecció, en rates (Lapper i Bolam, 1992) i primats (Sadikot *et al.*, 1992b).

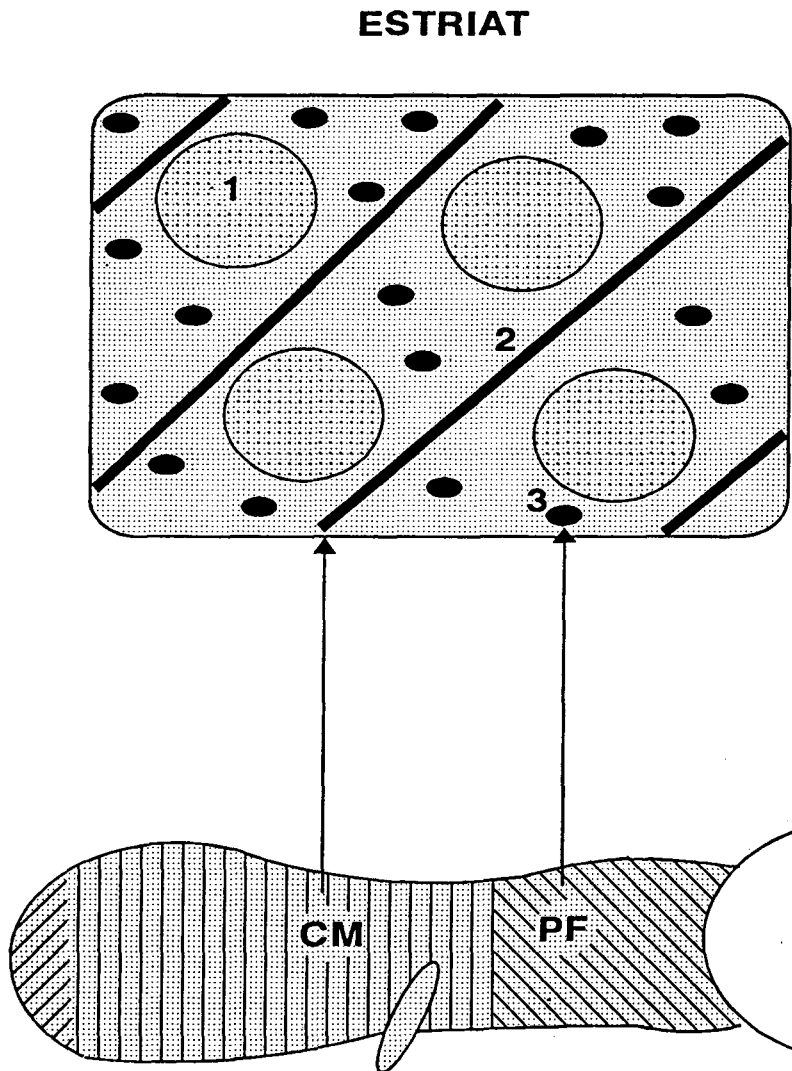


Figura 1.2,3. Esquema que representa la terminació de les projeccions del CM-PF en l'estriat. 1: estriosomes; 2: bandes que corresponen a la terminació de fibres que provenen del CM; 3: taques ("patches") que corresponen a la terminació de fibres amb origen al PF. (CM: nucli centremitjà; PF: nucli parafascicular).

Pel que fa al GP, s'han descobert projeccions provinents del PF menys denses que les que hem descrit pel caudat-putamen. Aquestes fibres que projecten al GP semblen ser ipsilaterals i ordenades topogràficament (rata: Kincaid *et al.*, 1991; gat: Royce i Mourey, 1985; primat: Sadikot *et al.*, 1990, 1992a). De totes

maneres, en referència al nucli entopeduncular de la rata (GPi), sembla ser que les col.laterals provinents de l'adjacent nucli Eth són molt més nombroses que les que provenen del PF (Deschênes *et al.*, 1996). Per tant, es necessiten més estudis al respecte. En la rata, l'organització topogràfica de les projeccions del PF al GP consisteix en què les neurones del PFl projecten preferentment a la part lateral del GP, molt relacionada amb les funcions motores dels ganglis basals, i les neurones del PFm projecten principalment a la part ventral del GP, associada a aspectes límbics dels ganglis basals. Una topografia idèntica va ser trobada en primats, on s'observa que el CM i el PF projecten de manera complementària al GP (tal com projecten a l'estriat): el CM projecta principalment a l'àrea del GP relacionada amb territoris estriats sensoriomotors, mentre que el PF a l'àrea relacionada amb territoris estriats associatius i límbics (Sadikot *et al.*, 1992a). D'altra banda, en primats s'ha trobat que les terminals del CM formen freqüentment sinapsis asimètriques amb cèl.lules del GPi, però molt rarament amb cèl.lules del GPe (Sibidé i Smith, 1996).

El CM-PF també envia fibres directament al NST, éssent l'única estructura talàmica que innerva aquest nucli (rata: Féger i Mouroux, 1991; Groenewegen i Berendse, 1994; Sugimoto, Hattori, Mizuno, Itoh i Sato, 1983; gat: Royce i Mourey, 1985; Sugimoto *et al.*, 1983; primat: Sadikot *et al.*, 1992a). Segons tots aquests estudis, la projecció és ipsilateral però un treball amb registres electrofisiològics i lesions excitotòxiques bilaterals del PF, ens mostra que cada PF pot controlar també el NST contralateral probablement a través d'una comunicació intertalàmica via el NRT (Mouroux, Hassani i Féger, 1995). Un estudi que va utilitzar tècniques immunocitoquímiques combinades amb traçadors anterògrads (Bevan, Francis i Bolam, 1995), va mostrar que les fibres del PF arriben a tota l'extensió rostro-caudal del NST, per bé que Sugimoto *et al.* (1983) havien descrit projeccions principalment en la part rostral del NST. Aquesta

discrepància es pot explicar en base a la quantitat de traçador i al mètode utilitzats, semblant-nos més fiables els del treball de Bevan *et al.* (1995). En un principi es va suggerir que els axons que arriben al NST podien ser col.laterals de neurones del CM-PF que projecten cap a l'estriat (Sugimoto *et al.*, 1983), però recentment s'ha descobert, emprant dos traçadors fluorescents, que les projeccions al NST i a l'estriat provenen de diferents neurones del nucli intralaminar, estant més concentrades en el PFm les que projecten al NST (Féger, Bevan i Crossman, 1994). Malgrat això, analitzant cèl.lules individuals del PF amb marcadors anterògrads es troben algunes neurones del PFl que projecten a les dues àrees (vegeu figura 1.2,4) (Deschênes *et al.*, 1996).

Quant a la distribució de les fibres del PF en el NST, s'ha constatat que la part lateral connecta directa i indirectament (via l'estriat dorsal i el GP) amb el NST lateral, el qual està molt relacionat amb circuits motors ja que innerva la SN i el GP. De forma semblant, la part medial del PF projecta directa i indirectament (via nucli accumbens i GP ventral) amb el NST medial, el qual està relacionat amb circuits límbics del ganglis basals. A l'igual que en l'estriat i el GP, la projecció del PFl-PFm (o CM-PF) al NST sembla respectar la divisió àrea sensoriomotora / àrea associativa-límbica. No obstant, la contribució al sector sensoriomotor per part del CM és menys prominent que la del PF al sector associatiu-límbic. Darrerament s'ha descobert, però, que la topografia d'aquesta projecció és més complexa que la que acabem d'esmentar ja que la separació d'inputs provinents del PFm i PFl no es troba en el quart més rostral ni en el marge exterior del NST (Bevan *et al.*, 1995). És a dir, en aquestes dues regions del NST es solapa la informació provinent de les dues parts del PF i per això hi ha convergència d'inputs sensoriomotors i límbics, encara que no sabem si aquesta convergència s'estableix en la mateixa neurona individual. D'altra banda, amb mesures electrofisiològiques, farmacològiques (Féger i Mouroux, 1991;

Mouroux i Féger, 1993; Mouroux *et al.*, 1995) i ultraestructurals (Bevan *et al.*, 1995) s'ha posat de manifest que la projecció del PF sobre el NST és monosinàptica i té un efecte sinàptic excitatori mediat pel glutamat.

En la figura 1.2,4 podem observar que el PF envia informació a diferents nuclis integrats en el sistema dels ganglis basals com són l'estriat, el GP i el NST. Per una integració del PF en les funcions dels ganglis basals, vegeu apartat 1.5.4., però com a conclusió podem dir que aquestes projeccions són excitatòries i ordenades topogràficament.

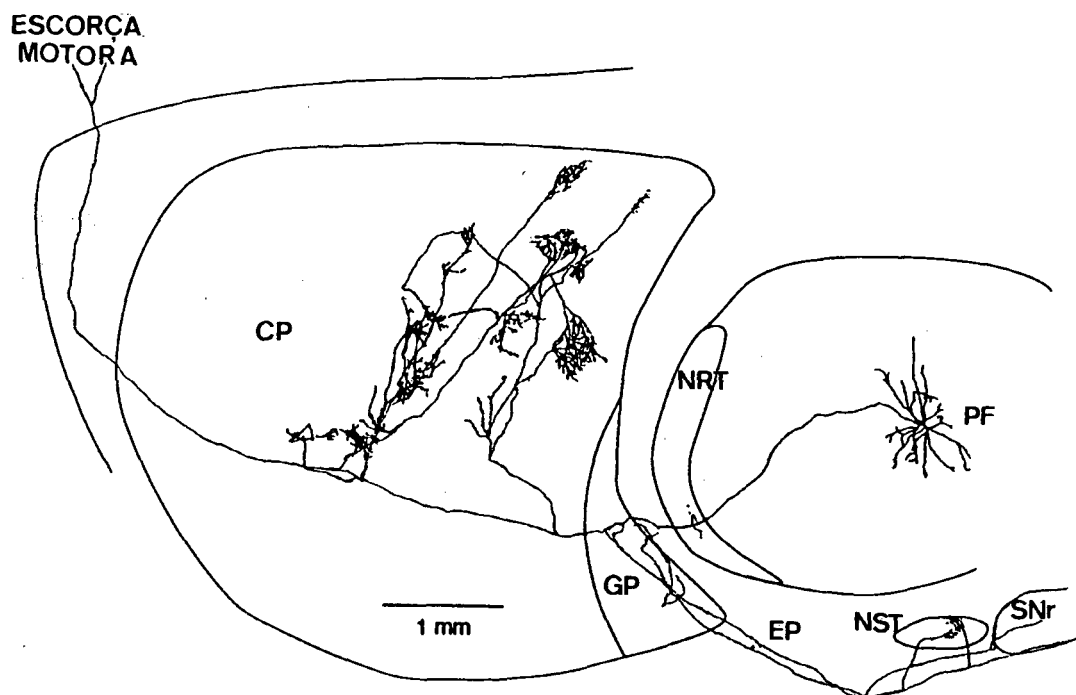


Figura 1.2,4. Projecció axonal d'una neurona del PF. (CP: complex caudat-putamen; EP: nucli entopeduncular; GP: globus pàl·lid; NRT: nucli reticular talàmic; NST: nucli subtalàmic; PF: nucli parafascicular del tàlem; SNr: substància negra). Adaptat de Deschênes *et al.* (1996).

• *Sistema Límbic*

Existeixen estudis en la rata, el gat i el primat que mostren que el PF, en especial el PFm (Ottersen, 1981; citat a Jayaraman, 1985), envia projeccions a l'amígdala (per revisió, vegeu Macchi i Bentivoglio, 1986). Els estudis en primats mostren que el PF projecta cap a la regió dorsal de l'amígdala, principalment als nuclis central i medial (Sadikot *et al.*, 1992a).

La formació hipocampal també sembla una regió diana del PF, almenys en la rata, ja que s'han trobat fibres a l'hipocamp amb origen al PF (Wyss, Swanson i Cowan, 1979; citat a Dahl i Winson, 1986), concretament al PFm (Berendse i Groenewegen (1991). A més a més, les neurones del PF poden influenciar la transmissió de la via perforant a la circumvolució dentada (Dahl i Winson, 1986).

En primats s'ha observat que el PF projecta a la regió de la substància innominata, situada en la regió basal del cervell, particularment al *nucli basal de Meynert* (Sadikot *et al.*, 1992a).

b. Diencèfal

El CM i el PF projecten a diferents àrees talàmiques com els nuclis intralaminars rostrals, el grup talàmic ventral i el NRT (rata: Cesaro *et al.*, 1985; gat: Beckstead 1984; Royce i Mourey, 1985; primat: Sadikot *et al.*, 1992a). Alguns dels axons que van al NRT semblen ser col.laterals de fibres que continuen cap a àrees més rostrals com l'estriat i l'escorça (Cesaro *et al.*, 1985). Aquests axons que van al NRT presenten una organització topogràfica: el PF

projecta a porcions rostrals del NRT mentre que el CM connecta amb sectors més caudals del nucli. En canvi, les projeccions que van cap el grup talàmic ventral semblen fibres de pas, encara que amb el mètode autoradiogràfic que van utilitzar Royce i Mourey (1985) no es pot determinar. Un aspecte interessant que s'ha descrit només en primats (Sadikot *et al.*, 1992a) és que el nucli CM sembla innervar neurones talàmiques que projecten a les escorces motora i premotora (p.ex. nucli ventrolateral), mentre que el PF envia eferències a àrees talàmiques connectades amb l'escorça prefrontal i camps oculars frontals (p.ex. nucli mediodorsal i nuclis de la línia mitja).

En gats s'han observat eferències del PF, particularment d'àrees ventrals i caudals del nucli, a l'**hipotàlem**, en concret al nucli hipotalàmic parvocel·lular i a l'àrea hipotalàmica dorsal (Royce i Mourey, 1985). En primats també s'han detectat projeccions a l'hipotàlem i s'observa que provenen de neurones localitzades en la porció ventral del complex PF-SPF (Sadikot *et al.*, 1992a). Per tant, el PF i el SPF poden ser considerats, juntament amb els nuclis de la línia mitja, com la major font d'inputs hipotalàmics.

També es troben projeccions a la *zona incerta* i als *camps de Forel*, en gats (Royce i Mourey, 1985).

c. Mesencèfal

En rates i primats s'han descrit projeccions ipsilaterals no molt denses des del PFl i CM-PF a la SNr (Gerfen *et al.*, 1982; Sadikot *et al.*, 1992a). També s'han observat eferències del PF a l'àrea **tegmental ventral** de Tsai, composta per neurones dopaminèrgiques conegudes com grup A10 (Phillipson, 1979). Una

altra àrea mesencefàlica diana del PF de la rata és la **SGP**, concretament la seva subdivisió ventrolateral (Beitz, 1982).

Almenys en gats, s'han trobat projeccions des del complex CM-PF als CS, al *nucli pretectal anterior* (Carstens *et al.*, 1990) i també a la *FRM* (Parent i Steriade, 1981, citat a Steriade i Glenn, 1982).

d. Metencèfal

- *Protuberància*

Les projeccions del sistema del rafe al PF han estat àmpliament estudiades, mentre que les projeccions recíproques han estat molt menys investigades. No obstant, un estudi amb marcadors anterògrads i microscopia electrònica de Marini i Tredici (1995) demostra que el PFI envia projeccions de naturalesa inhibidòria (són sinapsis simètriques) a tots els nuclis del rafe, excepte al nucli pà.lid del bulb. Les fibres es distribueixen bilateralment, però en el nucli dorsal del rafe la majoria són ipsilaterals.

L'organització de les eferències del CM-PF en primats ha estat resumida en l'esquema representat a la figura 1.2,5, proposat per Sadikot *et al.* (1992a), el qual es pot correspondre aproximadament amb un esquema de les eferències del PFI-PFm en rates.

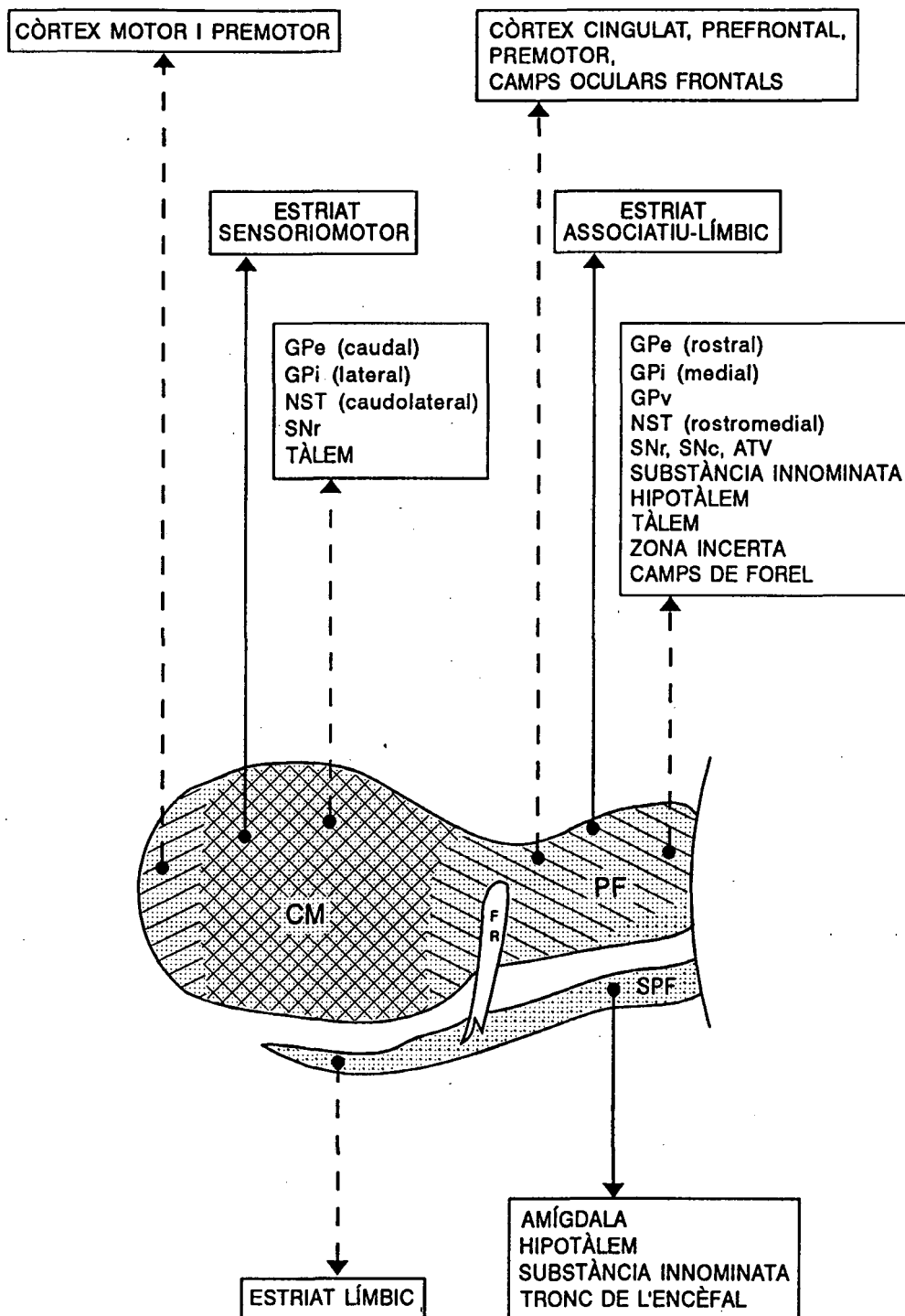


Figura 1.2,5. Diagrama que resumeix l'organització de les eferències del complex CM-PF-SPF en primats. Les principals eferències estan indicades amb línies contínues, mentre que les línies discontinües representen projeccions menys prominents. (ATV: àrea tegmental ventral; CM: nucli centremitjà; FR: fascicle retroflexus; GPe: segment extern del globus pàl.lid; GPi: segment intern del globus pàl.lid; GPv: part ventral del globus pàl.lid; NST: nucli subtalàmic; PF: nucli parafascicular del tàlem; SNC: pars compacta de la substància negra; SNr: pars reticulata de la substància negra; SPF: nucli subparafascicular). Adaptat de Sadikot et al. (1992a).

Considerant en conjunt les dades sobre les aferències i eferències del CM-PF podem extreure dues conclusions principals. D'una banda, el **PFm i el PFl presenten connexions diferents**, suggerint-nos que podrien estar associats a diferents circuits cerebrals. D'altra banda, les múltiples relacions neuroanatòmiques del PF ens indiquen que **aquest nucli pot formar part de diferents sistemes funcionals**.

Respecte a la primera conclusió, cal recordar que el PFl projecta a l'estriat sensoriomotor, a l'escorça sensoriomotora i al NST lateral, el qual presenta connexions recíproques amb estacions del *circuit motor* com són la SN i el GP. El PFm, en canvi, projecta a l'estriat associatiu-límbic i al NST medial, el qual està associat amb els *circuits límbics* dels ganglis basals. Quant a la segona conclusió, les projeccions recíproques que el PF manté amb l'escorça motora, els ganglis basals i els nuclis del cerebel el situen dins del context del *sistema motor*. A més a més, el PF ha estat relacionat amb *mecanismes de son i vigília* i amb el *substrat nerviós del reforç*. Aquests mecanismes, juntament amb les importants projeccions de la formació reticular i dels nuclis tegmentals pedunculopòntics, de marcada naturalesa colinèrgica, ens indueixen a relacionar-lo amb els sistemes cerebrals responsables de l'*activació*. Un tercer sistema amb el que podem relacionar el PF és el *sistema sensoperceptiu del dolor* ja que manté connexions amb la SGP, els nuclis del rafe i els pretectals.

1.3. NEUROQUÍMICA

La investigació de la neuroquímica i les accions dels neurotransmissors en el tàlem ha estat molt restringida a dos tipus de cèl.lules: les neurones dels nuclis de relleu, especialment les del nucli geniculat lateral, i les neurones del NRT, que contenen àcid γ -aminobutíric (GABA) (McCormick, 1992). Estudiant la bibliografia trobem que els aspectes neuroquímics del circuit bàsic talamocortical són força coneguts, cosa que no succeeix amb els intralaminars en general i el PF en particular, el qual ha estat relacionat amb molts sistemes de neurotransmissors. Tot això sembla degut, almenys en part, a les àmplies connexions, aferents i eferents d'aquest nucli.

1.3.1. Acetilcolina

L'acetilcolina (ACh) és generalment excitatòria i constitueix un dels neurotransmissors clàssics, encara que la seva distribució no fa gaires anys que es coneix degut a la dificultat per a l'identificació morfològica, amb un grau acceptable d'especificitat, d'estructures colinèrgiques. La presència d'AChE, l'enzim degradador d'ACh, va permetre d'identificar elements suposadament colinèrgics. No obstant, el descobriment de cèl.lules monoaminèrgiques que també presenten activitat AChE, juntament amb el fet que l'AChE marca neurones colinèrgiques presinàptiques i neurones colinoceptives postsinàptiques, ha qüestionat la validesa de l'AChE com a identificador de neurones colinèrgiques (p.ex. Cavada *et al.*, 1995). Actualment hi ha acord en considerar que la colinacetiltransferasa (ChAT), l'enzim sintetitzador d'ACh, és un marcador més fiable, encara que es segueix utilitzant també l'AChE ja que la majoria de neurones que es tenyeixen intensament amb AChE són també immunopositives amb ChAT (Parent, Côté i Lavoie, 1995).

Basant-nos en estudis amb animals, podem dir que l'ACh és un dels sistemes de neurotransmissors que més s'ha relacionat amb el CM-PF, en part degut a que presenta una alta activitat AChE (de fet, tots els intralaminars; vegeu làmines 29, 32, 33 i 36 de Paxinos i Watson, 1986) i immunoreactivitat a la ChAT (Paré *et al.*, 1988). En primats s'ha observat que la tinció per a l'AChE és més intensa en la part medial del complex CM-PF, és a dir, en el PF (Sadikot *et al.*, 1992a). A més a més, alguns autors (p.ex. Woolf i Butcher, 1986) han descrit la naturalesa colinèrgica de les projeccions de la via CM-PF-estriat.

Pel que fa a les aferències colinèrgiques, les tincions amb ChAT mostren que el tàlem en humans rep una innervació colinèrgica àmplia i substancial, trobant els nivells més alts de ChAT en els nuclis intralaminars, excepte el PF on es troba una tinció intermèdia (Mesulam, 1995). En diverses espècies animals, quasi tots els nuclis del tàlem reben importants aferències del tronc de l'encèfal, on es troben dos grups cel.lulars que contenen neurones colinèrgiques: el Ch5 i el Ch6. El grup Ch5 està compost per neurones grans que es localitzen principalment en el nucli tegmental pedunculopòntic, si bé s'estén també al nucli cuneiforme i a la regió parabraquial. El Ch6 consisteix en neurones relativament petites que es localitzen en el nucli tegmental laterodorsal. Mitjançant tècniques de traçadors, tant retrògrads com anterògrads, s'ha pogut determinar que la majoria de projeccions dels nuclis pedunculopòntic i laterodorsal al tàlem, i en particular al CM-PF, són bilaterals i provenen de les neurones colinèrgiques de les regions Ch5 i Ch6 (vegeu apartat 1.2.2.1.). Aquestes neurones poden tenir un efecte directe sobre el CM-PF i també un efecte indirecte a través del NRT via GABA. D'altra banda, s'ha demostrat que algunes neurones colinèrgiques del nucli laterodorsal que projecten al PF també envien col.laterals als nuclis de la línia mitja (Bolton *et al.*, 1993).

Les accions de les neurones colinèrgiques del tronc de l'encèfal sobre el tàlem es coneixen a partir d'estudis *in vitro*, en els que s'apliquen agonistes colinèrgics, i d'experiments *in vivo*, en els que es realitzen registres cel·lulars. Els efectes de l'ACh en les cèl·lules talàmiques del gat consisteixen en una ràpida excitació nicotínica seguida d'una lenta despolarització muscarínica (Steriade *et al.*, 1990).

Les projeccions colinèrgiques ascendents formen part de l'anomenat *complex colinèrgic ponto-mesencefàlic-tegmental*, que innerva diferents regions telencefàliques i diencefàliques, en les que s'inclouen els ganglis basals i varies estructures talàmiques com el PF (figura 1.3,1). Aquest complex ha estat relacionat amb diversos mecanismes que participen en el control de l'estat cerebral i es pensa que és important per a la regulació dels estats d'arousal, l'atenció i el cicle son-vigília (vegeu apartat 1.5.1.). Els sistemes colinèrgics també han estat relacionats amb l'aprenentatge i la memòria i alguns investigadors els proposen com necessaris per a la selecció d'estratègies i moviments que són pre-requisits per l'aprenentatge (Fibiger, 1991; Mesulam, Mufson, Wainer i Levey, 1983).

No totes les aferències al CM-PF que provenen de Ch5 i Ch6 contenen ACh. També s'han descobert projeccions paral·leles al CM-PF que s'originen en neurones petites no colinèrgiques de les mateixes regions (Isaacson i Tanaka, 1986; Paré *et al.*, 1988); de moment, però, no es coneix el neurotransmissor utilitzat ni les seves accions sobre el PF. A més a més, a part de les projeccions provinents de Ch5 i Ch6, alguns nuclis talàmics, com els intralaminars i el NRT, reben una segona innervació colinèrgica del cervell basal (neurones Ch1-Ch4) encara que l'input predominant és el que prové del tronc de l'encèfal (Mesulam, 1995).

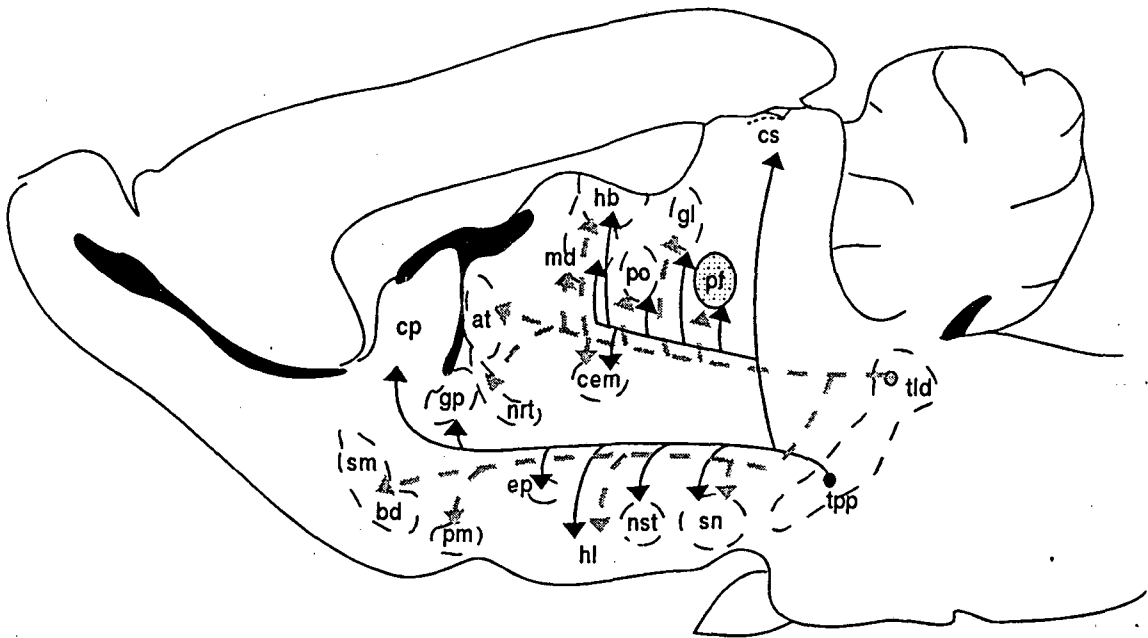


Figura 1.3,1. Representació sagital esquemàtica d'algunes de les projeccions més importants del sistema colinèrgic ponto-mesencefàlic-tegmental en la rata. Les línies discontinues indiquen projeccions que deriven de nucli tegmental laterodorsal (tld) i les línies contínues representen vies amb origen al nucli tegmental pedunculopòntic (tpp). (at: àrea nuclear anterior talàmica; bd: banda diagonal; cem: nucli central-medial; cp: complex caudat-putamen; cs: col·lícles superiors; ep: nucli entopeduncular; gl: nucli geniculat lateral; gp: globus pàl·lid; hb: nuclis habenulars; hl: àrea hipotalàmica lateral; md: àrea nuclear mediodorsal talàmica; nrt: nucli reticular talàmic; nst: nucli subtalàmic; pi: nucli parafascicular del tàlem; pm: àrea preòptica magnocel·lular; po: àrea nuclear posterior talàmica; tld: nucli tegmental laterodorsal; tpp: nucli tegmental pedunculopòntic; sm: septum medial; sn: substància negra). Adaptat de Woolf i Butcher (1986).

1.3.2. Catecolamines

El sistema dopaminèrgic ha estat subdividit en (vegeu figura 1.3,2): (1) la via mesoestriada, que projecta a tot l'estriat i (2) la via mesolímbico-cortical, que s'acaba a àrees límbiques corticals així com al septum, l'amígdala o l'habènula. La primera via està formada per una part dorsal, que correspon a la projecció nigroestriada (s'origina a la part compacta de la SN i innerva l'estriat dorsal) i una part ventral, que correspon a la projecció mesolímbica (s'origina a l'àrea tegmental ventral i innerva l'estriat ventral) (Parent *et al.*, 1995). El PF s'ha relacionat amb el sistema dopaminèrgic i s'ha vist que hi ha projeccions ascendents del PF cap a zones que contenen neurones dopaminèrgiques com l'escorça prefrontal i l'estriat, i també projeccions descendents cap a l'àrea tegmental ventral i la SN. Les projeccions ascendents són més denses que les descendents i, suposem que per aquest motiu, pràcticament tots els treballs que relacionen el PF amb vies dopaminèrgiques fan referència a les primeres.

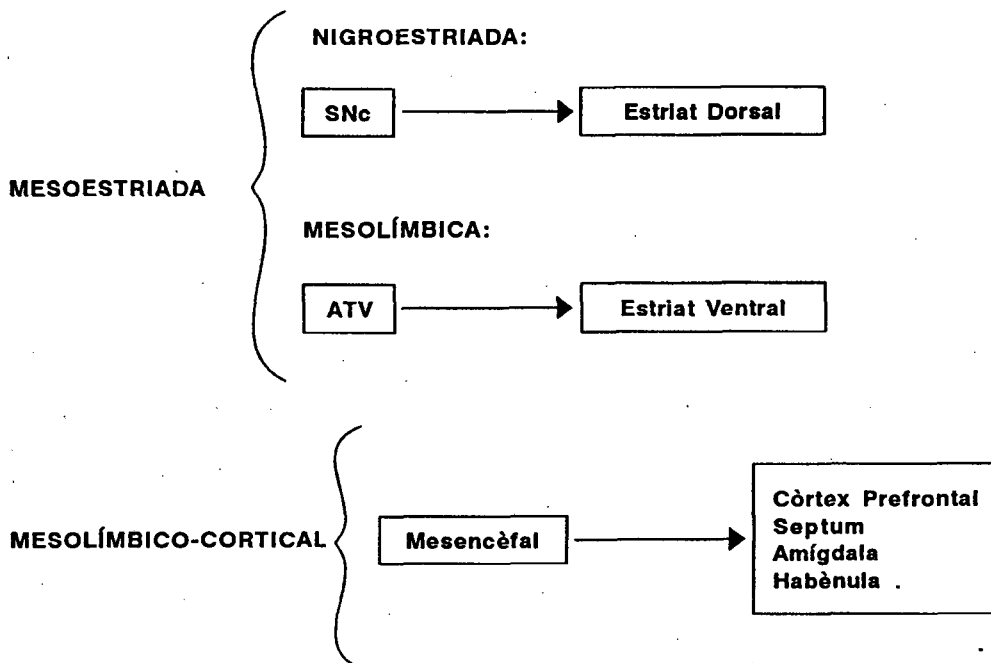


Figura 1.3.2. Subdivisions del sistema dopaminèrgic. (ATV: àrea tegmental ventral; SNC: pars compacta de la substància negra).

Els mecanismes responsables del control de la síntesi, l'alliberament i el metabolisme de la dopamina (DA) en el SNC han estat molt estudiats. La majoria dels treballs es centren en la via dopaminèrgica nigroestriada i recentment s'ha considerat el tàlem com un possible regulador de la transmissió dopaminèrgica d'aquesta via. El paper més acceptat del PF en relació a les vies dopaminèrgiques és que la seva activació facilita la transmissió de la DA en l'estriat. Per tal de fer més clara l'exposició hem agrupat les dades que recolzen aquesta teoria en tres tipus d'experiments:

- Els que avaluen els efectes de l'estimulació del PF sobre la utilització de la DA, mesurada amb la proporció metabòlits:amina (paràmetre que pot ser un indicador de l'alliberació sinàptica de DA).
- Els que avaluen els efectes de les lesions del PF sobre la utilització de la DA i la taxa de resposta de neurones dopaminèrgiques.
- Els que avaluen els efectes de les lesions del PF sobre variables conductuals.

a. Efectes de l'estimulació del parafascicular sobre la utilització de DA

Pel que fa a aquest grup d'experiments, l'estimulació elèctrica unilateral del PF en rates anestesiades produeix augments bilaterals de la utilització o alliberament de DA en el complex caudat-putamen sense alterar aquest paràmetre en els cossos cel.lulars de la SN (Kilpatrick i Phillipson, 1986). El mecanisme sembla ser, d'una banda, independent dels canvis en la taxa de resposta de la SN, i d'altra banda, específic del PF ja que els canvis en l'estriat no es donen quan s'estimulen àrees talàmiques adjacents o regions corticals. Aquests resultats són

concordants amb algunes troballes en gats (McLennan, 1964; citat a Kilpatrick, Jones, Johnson, Cornwall i Phillipson, 1986a). En aquest mateix sentit trobem dades que indiquen que l'estimulació elèctrica unilateral del PF en rates augmenta bilateralment la utilització de DA en el nucli accumbens, però bé que la disminueix en l'escorça prefrontal (Kilpatrick i Phillipson, 1986). No obstant, en un treball realitzat en gats, on es mesuren mitjançant el mètode *push-pull* els efectes de l'estimulació elèctrica del PF sobre l'alliberament en el nucli caudat de DA tritiada ($[^3\text{H}]\text{DA}$) sintetitzada de nou, es troba que l'estimulació del PF i el CM provoca una reducció en el flux de $[^3\text{H}]\text{DA}$ (Chéramy, Chesselet, Romo, Leviel i Glowinski, 1983). Aquestes dades són difícils d'interpretar (i d'assimilar amb les anteriors) i trobem dues possibilitats: 1) els canvis podrien no ser deguts a l'estimulació del PF ja que alguns van ocórrer després d'un llarg període postestímul; i 2) l'estimulació del PF pot produir un augment en la utilització de DA alhora que una disminució en la conversió de tirosina en DA (vegeu figura 1.3,3).

b. Efectes de les lesions del parafascicular sobre la utilització de DA

Quant a l'efecte de les lesions del PF, s'ha vist que la lesió unilateral amb àcid ibotènic en rates anestesiades produeix una disminució unilateral de la utilització de la DA en el complex caudat-putamen i el nucli accumbens. Aquesta disminució s'observa set dies després de la lesió i no afecta la SN. Ara bé, el mateix tractament provoca un augment bilateral del metabolisme de la DA en la mateixa regió les quatre hores post-lesió (Kilpatrick *et al.*, 1986a). Aquests efectes a curt termini es poden explicar en base als efectes aguts de l'aplicació de l'àcid, ja que provoca accions excitatòries (igual que l'estimulació elèctrica) en les neurones a curt termini, mentre que, a més llarg termini, causa una acció neurotòxica destruïnt cossos neuronals sense afectar les fibres de pas. Altres

estudis han trobat que la lesió per radiofreqüència del PF en rates resulta en un canvi en el nombre de receptors D_2 , els quals podrien ser receptors presinàptics (Kilpatrick, Jones, Pycock, Riches i Phillipson, 1986b). D'altra banda, les lesions unilaterals del PF poden eliminar asimetries en la taxa de resposta de neurones dopaminèrgiques nigroestriades (Levine, Hull, Buchwald, Heller i Erinoff, 1977; citat a Becquet, Faudon i Héry, 1988).

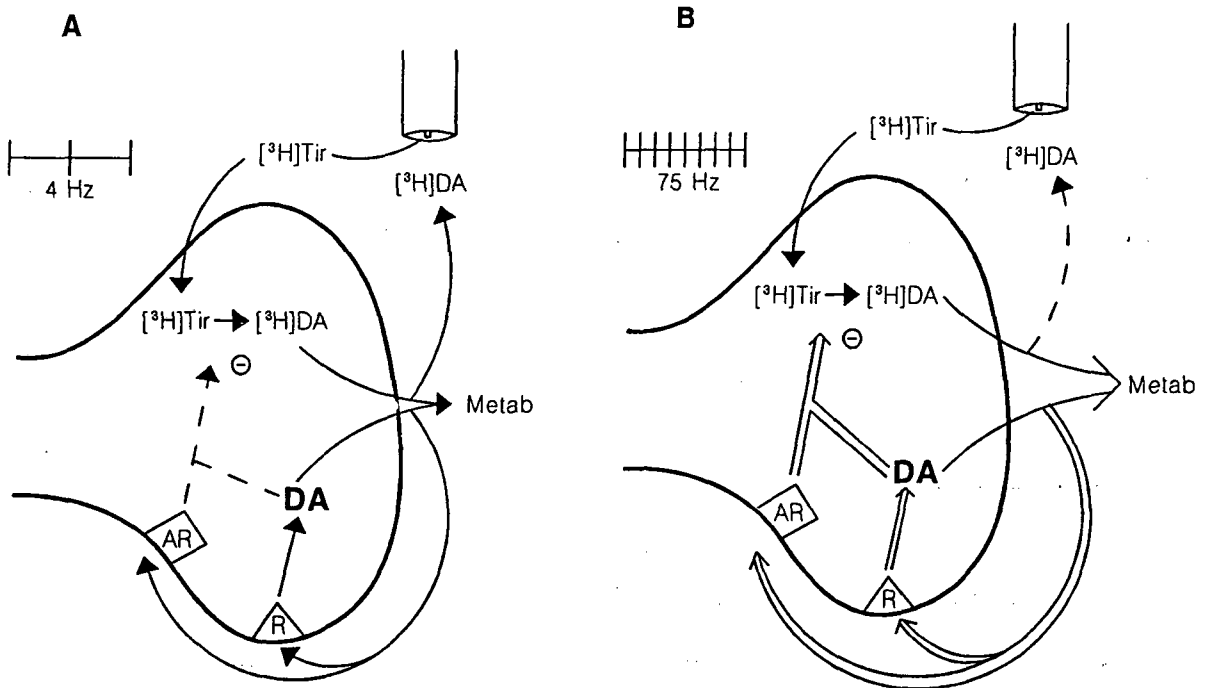


Figura 1.3.3. Diagrama que representa la relació entre la proporció de DA que prové d'un precursor tritiat i l'alliberament i metabolisme de DA després de l'estimulació del PF. (A) Terminal de DA sota condicions de repòs (el tàlem no li envia inputs), amb perfusió local des d'una cànula de push-pull que allibera tirosina tritiatada ($[^3H]Tir$) i recupera dopamina tritiatada ($[^3H]DA$). L'activació dels AR i/o la recaptació de DA porta a una inhibició de la hidroxilació de la tirosina i de la formació de $[^3H]DA$. (B) Terminal de DA sota condicions d'alta activació talàmica. Ara es troba una elevada estimulació dels AR i/o recaptació de la DA ja que s'ha incrementat l'alliberament de DA; això fa que es reduïxin tant la síntesi com l'alliberament de $[^3H]DA$ en presència de una major formació de metabòlits. (AR: autoreceptor; Metab: rutes metabòliques als metabòlits HVA i DOPAC; R: llocs de recaptació de la DA). Adaptat de Kilpatrick et al (1986a).

c. Efectes de les lesions del parafascicular sobre la conducta

Els resultats dels estudis conductuals suggereixen també un paper del PF en la regulació de la funció dopaminèrgica. Així, les lesions dels intralaminars produeixen una incapacitat per iniciar moviments (Delacour, 1971), amb efectes molt similars als que s'observen després de l'aplicació de drogues antipsicòtiques que bloquegen la neurotransmissió dopaminèrgica. A més a més, l'haloperidol pot potenciar la catalèpsia produïda per lesions bilaterals per radiofreqüència del PF (Ahlenius, 1978). Les lesions unilaterals provoquen conducta de rotació (de l'anglès *circling behavior*) ipsilateral a la lesió després d'un tractament amb apomorfinina (Ahlenius, Andén i Grabowska-Andén, 1982; citat a Kilpatrick *et al.*, 1986a). En aquests dos estudis s'ha posat de manifest que la lesió electrolítica del PF disminueix l'alliberament de DA en el complex caudat-putamen.

En conjunt (vegeu taula 1.3,1), tots aquests resultats evidencien que el PF pot influenciar les funcions de la DA en l'estriat (i també en l'escorça), ja sigui via un circuit local i/o un mecanisme presinàptic, però el que no coneixem encara és si aquest efecte es degut a la via talamoestriada o si, pel contrari, podria tractar-se d'un efecte no tan directe en el que intervinguessin unes altres vies com les corticals (via tàlem-escorça-estriat). Els autors dels treballs que hem anomenat s'inclinen més per la segona hipòtesi, però cal comentar que recentment (vegeu apartat 1.2.2.2.) s'ha descobert que les sinapsis entre el CM-PF i les cèl.lules colinèrgiques de l'estriat són excitatòries; així doncs, podríem apostar per la primera hipòtesi, és a dir, una via excitatòria directa des del PF que controlaria l'activitat dopaminèrgica de l'estriat.

		Utilització DA en l'estriat	Variables conductuals
Estimulació Elèctrica PF unilateral		augment bilateral	
Lesió	PF unilateral	disminució unilateral (7 dies post-lesió)	augment rotació (després d'apomorfinina)
	PF bilateral		augment catalèpsia (induïda per haloperidol)

Taula 1.3.1. Efectes de l'estimulació elèctrica i la lesió amb àcid ibotènic del nucli PF sobre la utilització de la DA i sobre algunes variables conductuals (Kilpatrick et al., 1986a; Kilpatrick i Phillipson, 1986).

Amb tot, la regulació de la utilització de la DA per part del tàlem no es realitzada únicament pel PF, sinó que intervenen altres nuclis. Aquesta regulació és anatòmicament específica ja que el PF, els intralaminars i el nucli mediodorsal regulen respectivament la utilització de la DA en les terminals dopaminèrgiques del complex caudat-putamen (via nigroestriada), del nucli accumbens (via mesolímbica) i de l'escorça prefrontal (via mesolímbico-cortical) (Kilpatrick i Phillipson, 1986). Bolton *et al.* (1993) han suggerit que el control del tàlem en la utilització de la DA pot ser modulats per una regulació colinèrgica coordinada o "no específica" dels diferents nuclis talàmics, que s'originaria en nuclis tegmentals com per exemple el laterodorsal.

Pel que fa a la **noradrenalina (NA)**, s'han observat fibres immunoreactives a la presència de DA- β -hidroxilasa que semblen provenir del locus coeruleus (per tant, noradrenèrgiques) i que innerven extenses regions del tàlem. El tàlem de rosegadors, gats i primats conté una alta densitat d'adrenoreceptors α_1 i una baixa densitat d'adrenoreceptors α_2 i β (McCormick, 1992). Concretament en el PF, cal recordar (apartat 1.2.2.1.) que en rates i gats s'han descrit projeccions ascendents des del locus coeruleus al PF o CM-PF. A més a més, s'ha demostrat en la rata que del total de neurones del locus coeruleus que projecten al PF, més d'un 80% són noradrenèrgiques. Així mateix, aquestes neurones que contenen NA i projecten al PF representen un 38% (ipsilateral) i un 16% (contralateral) del total de neurones noradrenèrgiques del locus coeruleus sencer (Zhang, Mi, Xie i Qiao, 1992).

1.3.3. Serotonina

La **serotonina** (5-hidroxitriptamina, 5-HT) està distribuïda molt àmpliament en el cervell dels vertebrats. Aquesta monoamina s'ha relacionat amb diverses funcions fisiològiques i conductuals com el son, la nocicepció i d'altres (vegeu apartat 1.5.). A més a més, molts estudis han mostrat que la 5-HT participa, com a neuromodulador, en la funció dels ganglis basals (Parent *et al.*, 1995).

El PF també s'ha relacionat amb el sistema serotoninèrgic i s'ha vist que rep importants projeccions de nuclis que utilitzen la 5-HT com a neurotransmissor. Així, en molts estudis (vegeu apartat 1.2.2.1.) s'ha trobat que tant la SGP com els nuclis del rafe envien fibres al CM-PF. Quant al neurotransmissor implicat en la via rafe dorsal-PF, existeixen diverses dades que demostren que és la 5-HT.

Per exemple, els efectes de l'estimulació del rafe dorsal sobre les neurones del PF poden ser mimetitzats amb l'aplicació microiontoforètica de 5-HT (Andersen i Dafny, 1983). Més recentment, s'ha pogut demostrar en la rata que la majoria (aproximadament un 80%) de les neurones de la SGP i del rafe que projecten al CM-PF són serotoninèrgiques (Sim i Joseph, 1992; Zhang *et al.*, 1992). Per altra banda, les aferències de la SGP i del rafe al PF constitueixen només un 10-45% de totes les neurones que contenen 5-HT en aquestes dues regions (Zhang *et al.*, 1992).

Diferents investigadors han constatat el paper dels nuclis intralaminars en la regulació de l'activitat, no només dopaminèrgica (vegeu apartat anterior) sinó també serotoninèrgica, dels ganglis basals. En relació amb el possible control del PF sobre la utilització de la 5-HT en els ganglis basals, s'ha demostrat que la lesió unilateral del CM-PF amb àcid kaínic en la rata comporta canvis ipsi i contralaterals en la transmissió serotoninèrgica de l'estriat, la SN i l'escorça frontal, sense afectar els nuclis del rafe. En concret, la lesió va provocar un decrement en la utilització de 5-HT (indicada per la proporció del metabòlit àcid 5-hidroxiindolacètic:serotonina) en l'estriat i la SN, i un increment en l'escorça frontal. A més a més, la síntesi de 5-HT no va ser afectada per la lesió del CM-PF (Becquet *et al.*, 1988). Per tant, tal com podem observar en la taula 1.3,2, la regulació de la utilització de la 5-HT en l'estriat per part del PF és molt semblant a la que observem en el cas de la regulació de la DA.

Per tal d'explicar els resultats de Becquet *et al.* (1988), podem considerar tres hipòtesis (vegeu figura 1.3,4). En primer lloc, els canvis en la transmissió serotoninèrgica podrien ser el resultat d'una acció directa de les vies que van del CM-PF a l'estriat i/o l'escorça (vies 1 i/o 2). En aquest sentit, es coneix que la via CM-PF-estriat (via 1) és de naturalesa colinèrgica (vegeu apartat anterior) i

Utilització DA en l'estriat	Utilització 5-HT en l'estriat
Disminució (ipsilateral)	Disminució (bilateral)
No afecta la utilització en la SN	No afecta la utilització en el rafe

Taula 1.3.2. Efectes de la lesió unilateral amb àcid kaínic del nucli PF sobre la utilització de la DA i la 5-HT en l'estriat (Becquet et al., 1988; Kilpatrick et al., 1986a).

que les terminals presinàptiques de neurones serotoninèrgiques de l'estriat tenen receptors d'ACh. A més a més, si tenim present que en estudis *in vitro* s'ha trobat que l'ACh augmenta l'alliberació de 5-HT en teixit estriat de rata (Westfall, Grant, Naes i Meldrum, 1983), podem pensar que la via talamoestriada podria exercir un efecte excitatori en la transmissió serotoninèrgica de l'estriat. No obstant, no cal oblidar que tota l'ACh que innerva l'estriat no prové del CM-PF. Pel que fa a l'escorça, podria ser que l'alliberament de 5-HT en l'estriat fos regulat via un circuit que uneix el CM-PF amb l'escorça, i aquesta amb l'estriat (via 2). En segon lloc, els canvis en la 5-HT de l'estriat observats després de la lesió del PF, podrien ser el resultat de canvis en l'activitat de les neurones del rafe (el qual manté connexions recíproques amb el PF) que projecten a l'estriat, la SN i l'escorça frontal (via 3). En tercer lloc, podem acceptar la possibilitat que intervinguin circuits plurineuronals. De fet, la lesió del CM-PF també va causar canvis en la transmissió d'altres neurotransmisors com el GABA, la DA i el glutamat. Per exemple, en el cas del GABA, s'ha vist que aquest aminoàcid disminueix l'alliberament de 5-HT en l'estriat (Becquet, Faudon, Portalier i Héry, 1987; citat a Becquet et al., 1988), per tant, la disminució en la utilització

de 5-HT detectada després de les lesions del PF podria ser atribuïda a neurones GABAèrgiques.

Els efectes induïts per la lesió del CM-PF sobre la utilització de 5-HT van ser detectats no només en estructures ipsilaterals sinó també contralaterals. Això pot ser explicat per connexions intertalàmiques ja que existeixen dades anatòmiques que suggereixen que els nuclis intralaminars dels dos hemisferis estan interconnectats (per revisió vegeu Becquet *et al.*, 1988).

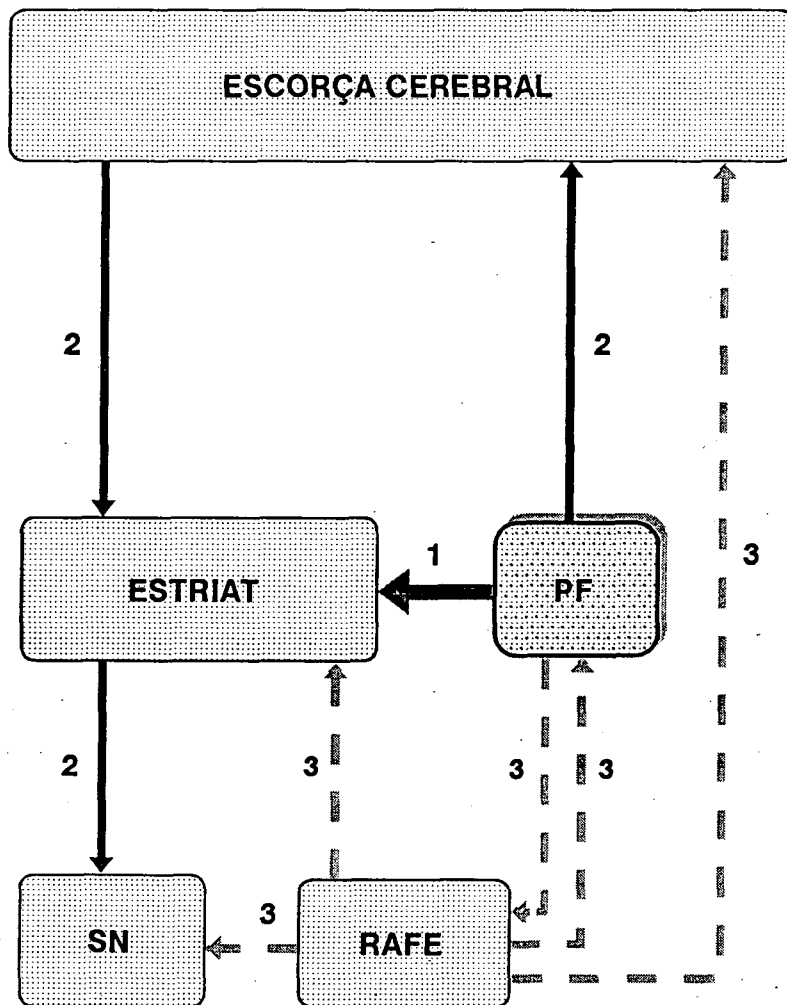


Figura 1.3.4. Esquema de les possibles vies a través de les quals el PF pot regular la transmissió serotoninèrgica en els ganglis basals i l'escorça frontal.

1.3.4. Aminoàcids

1.3.4.1. Inhibitoris: GABA

Les neurones que es tenyeixen per la presència de **GABA**, que és el neurotransmissor utilitzat en la majoria de sinapsis inhibidores, o del seu enzim de síntesi, l'àcid glutàmic descarboxilasa (GAD), formen dos grups diferents en el tàlem: interneurons de circuit local i neurones del NRT (Crunelli i Leresche, 1991; McCormick, 1992). Les dades immunohistoquímiques indiquen l'existència de neurones GABAèrgiques en tots els nuclis intralaminars de gats i primats, mentre que es troben molt poques en els intralaminars de rates (Bentivoglio, Spreafico, Minciacchi i Macchi, 1991b) i de moment es desconeix el significat funcional d'aquesta diferència entre espècies. Pel que fa al CM-PF de gats i primats, les neurones GABA o GAD-immunopositives prevaleixen en la part lateral del complex i al voltant del FR (Bentivoglio *et al.*, 1991b). Els cossos cel·lulars són petits, principalment amb forma rodona o ovoide, i molt semblants als descrits en altres nuclis talàmics de les mateixes espècies (Bentivoglio *et al.*, 1988). En mones, tant el CM com el PF semblen contenir menys neurones GABAèrgiques que la resta d'intralaminars i que els nuclis talàmics adjacents (Hunt, Pang i Jones, 1991; Smith, Seguela i Parent, 1987). En canvi, en gats s'observa que el CM-PF i el SPF són els nuclis que es tenyeixen més intensament de tot el tàlem amb marcadors de GABA (Rinvik, Ottersen i Storm-Mathisen, 1987). Aquestes neurones GAD- o GABA-positives no semblen ser de projecció, sinó més aviat interneurons que estan distribuïdes entre neurones de projecció. En suport d'aquesta idea està el fet que en el CM-PF dels primats s'han descrit neurones Golgi tipus II (vegeu apartat 1.1.). De totes maneres, encara està per aclarir l'organització i la naturalesa interneuronal d'aquestes neurones GABAèrgiques.

La innervació GABAèrgica del tàlem en general i dels intralaminars en particular és profusa. El NRT forma una via inhibidòria mitjançant la qual quasi tota l'activitat talàmica, i per tant aproximadament tota l'escorça cerebral, pot ser modulada i coordinada alhora (McCormick, 1992). Els nuclis intralaminars, el PF inclòs, constitueixen les dianes d'un gran nombre de neurones GABAèrgiques del NRT (Crunelli i Leresche, 1991). Així, aquests nuclis podrien estar exercint un paper important en el relleu entre el NRT i l'activitat de les cèl.lules del tàlem dorsal (Bentivoglio *et al.*, 1991b).

A més a més del GABA provinent del NRT, el PF es relaciona amb GABA dels ganglis basals. El CM-PF envia importants projeccions a estructures dels ganglis basals, les quals contenen neurones que majoritàriament utilitzen GABA com neurotransmissor inhibitori. En aquest sentit, s'ha trobat que les lesions amb àcid kaínic del CM-PF incrementen l'activitat de l'enzim GAD en l'estriat, suggerint que la via talamoestriada podria reduir la transmissió GABAèrgica (per referències, vegeu Becquet *et al.*, 1988). El PF, al seu torn, rep inputs del GPi (entopeduncular en rates) i la SNr, nuclis que inhibeixen tònicament l'activitat de neurones talamocorticals mitjançant GABA (Parent *et al.*, 1995). En contrast, un estudi recent que va utilitzar microscopia electrònica (Finkelstein *et al.*, 1996) no va trobar sinapsis simètriques entre els terminals de l'entopeduncular i els nuclis talàmics del complex ventral amb els que connecta; per tant, aquesta dada no concorda amb les teories anatòmiques ni patofisiològiques sobre els ganglis basals, i es necessiten més estudis al respecte.

El paper del GABA en els intralaminars no es coneix del tot però podria ser que influencés (interactuant principalment amb receptors GABA_B del tàlem; Crunelli i Leresche, 1991) la modulació de l'excitabilitat cortical i/o el pas de son a vigília (Hunt *et al.*, 1991), funcions que han estat associades als intralaminars.

D'altra banda, mitjançant estudis electrofisiològics s'ha vist que els receptors GABA localitzats en el PF de la rata podrien mediar l'acció antinociceptiva de les drogues GABAèrgiques (Reyes-Vazquez, Enna i Dafny, 1986).

1.3.4.2. Excitatoris

Malgrat el fet que l'àcid L-glutàmic o glutamat és un dels principals neurotransmissors excitatoris en el SNC, la distribució anatòmica d'aquesta molècula és relativament poc coneguda. Es pensa que el glutamat és probablement el neurotransmissor usat per les vies corticofugals, incloent les projeccions corticoestriades i corticotàlmiques (Parent *et al.*, 1995). Existeixen diferents indicis que ens indiquen que el tàlem rep projeccions excitatòries de l'escorça cerebral:

a) l'extirpació de l'escorça cerebral produeix una marcada reducció dels nivells de glutamat en el tàlem, b) les neurones corticals que projecten al tàlem presenten immunoreactivitat per a l'aspartat i/o glutamat, i c) el tàlem dels mamífers conté receptors N-metil-D-Aspartat (NMDA).

Respecte els intralaminars, existeix un estudi de Wiklund i Cuénod (1984; citat a Macchi i Bentivoglio, 1986) que suggereix que el glutamat i/o l'aspartat són els neurotransmissors de les cèl.lules corticals que projecten al CM-PF. A més a més, el tàlem també rep aferències subtalàmiques que semblen utilitzar com a neurotransmissor algun aminoàcid excitatori (McCormick, 1992).

Pel que fa a les fibres eferents del tàlem, una gran quantitat de dades anatòmiques, electrofisiològiques i farmacològiques suggereixen que el glutamat és el neurotransmissor utilitzat per pràcticament totes les fibres talamofugals, i en concret per neurones del PF (per referències, vegeu Mouroux i Féger, 1993).

S'ha vist que les talamocorticals són, sense cap excepció, excitatòries i possiblement utilitzen glutamat o aspartat com a neurotransmissors (Mesulam, 1995). Concretament, en el PF de la rata s'han observat unions asimètriques que contenen vesícules rodones i que contacten amb espines dendrítiques de cèl.lules piramidals de la capa V de l'escorça (Marini *et al.*, 1996). Les característiques morfològiques d'aquestes sinapsis suggereixen que la projecció PF-escorça exerceix una acció excitatòria.

Les neurones de l'estriat també són excitades per l'estimulació dels nuclis intralaminars (per revisió, vegeu Parent *et al.*, 1995). En aquest sentit, les eferències del CM-PF a l'estriat estan ben documentades (vegeu apartat 1.2.2.2.) i les anàlisis ultraestructurals han mostrat que aquestes projeccions formen sinapsis asimètriques sobre neurones localitzades en el compartiment matriu de l'estriat (Sadikot *et al.*, 1992b), moltes de les quals són interneurons colinèrgiques (Lapper i Bolam, 1992). En un treball molt recent realitzat *in vivo* amb rates (Consolo, Baronio, Guidi i Dichiarà, 1996) es mostra que el PF envia fibres a l'estriat que interactuen amb receptors NMDA. Aquests autors i altres (Lapper i Bolam, 1992; Mouroux i Féger, 1993) suggereixen que aquestes projeccions glutamatèrgiques poden jugar un paper important en l'estimulació de l'alliberació d'ACh en neurones de l'estriat dorsal.

Hi ha molts estudis, principalment d'un laboratori de París (Féger i Mouroux, 1991; Mouroux i Féger, 1993; Mouroux *et al.*, 1995; vegeu apartat 1.2.2.2.), que ens mostren que la projecció del PF al NST és excitatòria i està mediada per receptors AMPA i NMDA. També s'ha descrit que les terminals del PF presenten una alta immunoreactivitat pel glutamat, contenen vesícules rodones i formen contactes asimètrics amb dendrites de petit diàmetre i espines de parts distals de neurones del NST (Bevan *et al.*, 1995). Totes aquestes troballes ens

indiquen que les projeccions del PF al NST utilitzen com a neurotransmissor el glutamat i que el PF pot contribuir al manteniment de l'activació tònica de les neurones del NST.

1.3.5. Pèptids Neuroactius

El SNC i el perifèric contenen una gran diversitat de neuropèptids i molts d'ells van ser aïllats inicialment en òrgans perifèrics, particularment en el tracte gastrointestinal. En les últimes dues dècades, s'han identificat molts d'aquests pèptids així com els seus receptors en el SNC, però les seves funcions no són del tot conegudes. L'aprenentatge i la memòria són afectats per molts pèptids i cap d'ells és específic ja que realitzen altres activitats en el cervell, en la hipòfisi i en la perifèria (De Wied, 1997). La hipòtesi general és que poden realitzar un paper significatiu en els processos de plasticitat neural associats amb l'aprenentatge i la formació de la memòria (Huston i Hasenöhr, 1995). Alguns dels pèptids que es poden relacionar amb el PF són les encefalines, la colecistokinina (CCK), la substància P, la galanina (GAL), l'ACTH (hormona adrenocorticotropa), la vasopressina i la neurotensina.

Les neurones encefalinèrgiques constitueixen un gran sistema peptidèrgic en el cervell de la rata i s'han relacionat amb l'analgèsia (Khachaturian, Lewis, Schäfer i Watson, 1985). Les fibres encefalinèrgiques i els receptors opiacis són presents en diverses parts del tàlem, i són particularment abundants en els nuclis intralaminars (Macchi i Bentivoglio, 1986). En contrast, estudis immunohistoquímics van trobar que en el tàlem es localitzen molt pocs somes encefalinèrgics i es considerà que les fibres que contenen encefalines s'originen principalment en la medulla, el tronc de l'encèfal i l'hipotàlem. No obstant, utilitzant tècniques d'hibridació *in situ*, s'han localitzat en el tàlem (el PF inclòs)

quantitats moderades d'àcid ribonucleic missatger que codifica pre-proencefalina. Això ens està indicant la presència de cossos cel·lulars que contenen encefalines (per revisió, vegeu Hermanson, Hallbeck i Blomqvist, 1995). Hermanson et al (1995) suggereixen que algunes d'aquestes neurones podrien ser l'origen de fibres encefalinèrgiques que són presents en diverses regions del tàlem dorsal.

Existeix evidència que la CCK pot actuar com a neurotransmissor i/o neuromodulador en el cervell (Tanaka, Kariya, Ushigome, Matsuda i Nomura, 1994) i que interactua amb dos tipus de receptors en el SNC: els CCK-B, principalment, i els CCK-A, que també són els responsables dels efectes digestius de la CCK (Koyama, Nishikawa, Chen, Barderrama i Yokota, 1995a). En diverses espècies s'ha posat de manifest que el tàlem, i específicament els nuclis intralaminars, rep fibres que contenen CCK (Hunt, Seroogy, Gall i Jones, 1987), encefalines o, fins i tot, fibres on coexisteixen CCK i encefalines (per revisió, vegeu Bian, Sun i Han, 1993a). L'origen probable de les fibres de CCK és el tronc de l'encèfal, encara que la zona concreta no es coneix (Hunt *et al.*, 1987). Els treballs experimentals suggereixen la participació de la CCK cerebral en quatre camps: modulació de la funció dopaminèrgica, control del dolor, ansietat i formació de la memòria (vegeu Koyama *et al.*, 1995a), si bé els estudis de què disposem relacionen principalment el PF i la CCK amb el sistema sensorial de dolor (Bian *et al.*, 1993a; Bian, Sun, Xu i Han, 1993b).

La **substància P** és un pèptid de la família de les taquikinines i se li atribueixen funcions neurotròfiques així com efectes facilitadors sobre la memòria (De Wied, 1997; Huston i Hasenöhrl, 1995). En gats, s'ha trobat que existeixen cèl·lules del complex CM-PF que projecten a l'estriat que són substància P-positives. D'altra banda, Sim i Joseph (1992) van demostrar l'existència de projeccions del nucli tegmental laterodorsal al CM-PF que presenten

immunoreactivitat a la substància P. Segons les autores, aquesta podria ser una via a través de la qual es podria elicitar antinocicepció o altres funcions, com l'activitat límbica o locomotora, necessàries per la resposta a estímuls nociceptius. Val a dir que el nucli tegmental laterodorsal conté una població de cèl.lules neuroquímicament diversa, on s'ha trobat que la substància P coexisteix amb l'ACh en neurones individuals (Vincent, Satoh, Armstrong, Panula, Vales i Fibiger, 1986; citat a Sim i Joseph, 1992), encara que de moment no es coneix la significació funcional d'aquestes neurones.

La GAL és un pèptid existent en el cervell que ha estat colocalitzat amb la NA en botons terminals de l'hipotàlem. En el cas del PF, s'ha demostrat en rates que, del conjunt de neurones GALèrgiques del locus coeruleus, un 40% i un 14% projecten respectivament al PF ipsi i contralateral. A més a més, de totes les neurones del locus coeruleus que projecten al PF, aproximadament un 80% contenen NA o GAL (Zhang *et al.*, 1992). Degut als alts percentatges d'aquests dos tipus de neurones i al seu patró de distribució similar, Zhang *et al.* (1992) conclouen que la NA i la GAL coexisteixen almenys en el 60% del total de les neurones del locus coeruleus que projecten al PF i suggereixen que aquesta projecció pot ser important en la modulació de la nocicepció a nivell talàmic.

En ocells, també s'ha trobat que la *neurotensina* pot ser utilitzada com a neurotransmissor en les projeccions talamoestriades que s'originen en la zona talàmica dorsal, la qual sembla ser l'homòloga dels intralaminars, nuclis de la línia mitja i complex mediodorsal del tàlem dels mamífers (Veenman, Karle, Anderson i Reiner, 1995).

Finalment, l'àrea del PF sembla ser sensible als efectes conductuals (relacionats amb l'aprenentatge d'evitació) dels anàlegs d'ACTH i de la vasopressina (Van Wimersma *et al.*, 1974) (vegeu apartat 2.1.).

Veiem, doncs, que els principals pèptids neuroactius relacionats amb el PF (encefalines, CCK, substància P, GAL) semblen tenir un paper en la modulació del dolor, en la qual participen els intralaminars i el PF especialment (vegeu apartat 1.5.3.).

1.3.6. Proteïnes

La presència de proteïnes ha estat de gran ajuda per tal de distingir diferents grups de neurones que són homogenis respecte alguns neurotransmissors. En el sistema nerviós dels rosegadors es troben, amb una àmplia distribució, dues proteïnes que es lliguen al calci (de l'anglès *calcium-binding proteins*): la **calbindina** i la **parvalbumina**, encara que el seu paper fisiològic no ha estat descobert fins el moment. En el cas d'alguns nuclis talàmics que projecten a l'escorça cerebral, com el ventromedial, el CL o el reuniens, s'ha vist que la calbindina actua com a neurotransmissor (Lin, Nicolelis, Zhou i Chapin, 1996), en el gat i la rata.

Estudis immunohistoquímics en rates han mostrat neurones CaBP-positives en molts nuclis intralaminars i de la línia mitja (per revisió, vegeu Lin *et al.*, 1996). El complex CM-PF no presenta en general immunotinció CaBP, mentre que les cèl.lules del SPF es tenyeixen intensament, permetent així una discriminació entre aquestes cèl.lules i les del PF. No obstant, en la regió posterior del CM-PF, els límits de la qual són difícils d'establir, s'han trobat

cèl.lules CaBP-immunopositives en la part ventral del PF. Així, el PF conté en aquesta regió elements que són típics del SPF (Sadikot *et al.*, 1992a).

Com a conclusió de les relacions anatòmiques i neuroquímiques del PF, constatem que són molt diverses i que algunes no estan del tot aclarides. De totes maneres, hem intentat donar una visió de la diversitat de projeccions i de neurotransmissors, neuromoduladors i proteïnes amb els que el PF (o CM-PF) està relacionat. Veiem que aquest nucli talàmic apareix cada vegada més complex, alhora que es van millorant les tècniques d'estudi, i actualment podem dir que ja no és aquella estructura més o menys homogènia amb projeccions difuses que s'havia pensat que era. A part de l'**heterogeneïtat anatòmica**, és evident que el PF també és **funcionalment heterogeni i participa en diversos sistemes funcionals**, tal com comentarem en l'apartat 1.5.

1.4. ELECTROFISIOLOGIA

Les neurones talàmiques presenten dos tipus d'activitat electrofisiològica oposats, els quals reflecteixen dos estats comportamentals diferents. El tipus *relleu* és característic de l'estat de vigília i consisteix en una descàrrega tònica i una transmissió dels missatges al còrtex amb una alta fidelitat. El tipus *oscil.latori* és típic d'estats conductuals de descans, com la somnolència i el son d'ones lentes. Consisteix en descàrregues intercalades amb llargs períodes de silenci neuronal. Quant al primer tipus d'activitat, en el potencial de repòs normal, la resposta a una descàrrega sinàptica excitatòria és un potencial excitatori postsinàptic (PEP) que ocasionalment provoca espigues úniques, i la resposta a la despolarització directa és una descàrrega repetitiva tònica. La base iònica dels potencials d'acció ràpids obtinguts sota aquestes condicions és un increment en la conductància de sodi (Na^+). Si la cèl.lula s'hiperpolaritza, el mateix estímul d'abans genera espigues lentes coronades per una curta descàrrega de potencials d'acció ràpids, d'alta freqüència. L'espiga lenta és dependent de calci, mentre que les descàrregues ràpides que s'intercalen són dependents de Na^+ . Aquesta condició (hiperpolarització i descàrregues subsequents) pot ser assolida mitjançant pulsos intracel.lulars i en animals intactes anestesiats, o bé pot ocórrer de manera natural durant el son d'ones lentes (Steriade, 1987).

Segons alguns estudis, com l'anterior, totes les neurones talàmiques presenten les mateixes característiques electrofisiològiques, independentment de la seva morfologia particular (Jahnsen i Llinas, 1984; citat a Deschênes *et al.*, 1996). Així, les cèl.lules del PF tenen un baix llindar pel corrent de calci, igual que d'altres neurones del tàlem, encara que no existeixen dades que indiquin que les neurones parafasciculars estiguin dotades d'exactament les mateixes conductàncies dependents de voltatge que la resta de cèl.lules talàmiques. Segons

Deschênes *et al.* (1996) en aquests estudis no es van tenir en compte les llargues neurones de projecció que semblen formar part del PF (vegeu apartat 1.1.), degut a que els seus extensos arbres dendrífics fan que aquestes neurones no sobrevisquin en les seccions utilitzades (400 μm). Així doncs, existeix la possibilitat que les propietats electrofisiològiques d'algunes de les neurones del PF, almenys les de projecció, puguin ser diferents de les d'altres cèl.lules talàmiques.

En els estudis de Dafny i col.laboradors (Andersen i Dafny, 1983; Reyes-Vazquez *et al.*, 1986) es classifica l'activitat espontània de les neurones del PF en tres tipus, segons la seva taxa de resposta i patró d'activitat: *Tipus I* o *lenta* (0.5-10 espigues/seg.), *Tipus II* o *descàrrega* (2-6 espigues/10-20 msec., repetint-se les descàrregues cada 1-2 seg.) i *Tipus III* o *ràpida* (15-40 espigues/seg.). El primer grup de cèl.lules representa un 61-62% de la població neuronal total del PF. La forma de l'espiga d'aquest tipus de neurones és normalment positiva-negativa-positiva. Les cèl.lules amb un patró d'activitat *descàrrega* són aproximadament un 19-24% de la població del PF i presenten una forma d'espiga molt similar a les neurones amb activitat *lenta*, si bé l'amplitud de la primera espiga és generalment més gran que la de les següents espigues. Finalment, un 15-19% de la població neuronal del PF té un patró de descàrrega classificat com a *Tipus III*. En aquest cas, la duració de les espigues és més curta que en els altres dos tipus. Aquests patrons d'activitat també s'han trobat en animals que es movien lliurement, indicant que no són una conseqüència de l'antestèsia (Dafny i Gildenberg, 1984; citat a Reyes-Vazquez *et al.*, 1986).

1.5. RELACIONS FUNCIONALS

Com ja vam avançar al final de l'apartat 1.2 les múltiples relacions neuroanatòmiques del PF ens suggereixen que aquest nucli pot tenir un paper important en diferents sistemes funcionals com són el sistema d'activació, el sistema dels ganglis basals i el sistema sensoperceptiu del dolor. A més d'aquests sistemes, existeixen dades que ens indiquen una possible relació funcional entre el PF i el substrat nerviós del reforç. En els propers quatre apartats tractarem d'aclarir la possible participació del nucli PF del tàlem en els sistemes funcionals esmentats.

1.5.1. Sistema d'Activació General

Els nivells d'activació o arousal indiquen els nivells d'excitabilitat de l'escorça i d'estructures subcorticals, així com la seva predisposició a elicitar conductes i funcions cognitives. Aquest darrer aspecte és important en el tema que ens ocupa, ja que l'activació de determinats sistemes moduladors de l'arousal pot ser capaç de modificar diferents processos com, per exemple, l'aprenentatge i la memòria (Martínez-Selva, 1987). El sistema d'arousal va ser molt estudiat després de les seves primeres descripcions però durant més de tres dècades va caure en desús, degut a que les connexions i la neuroquímica de les vies neurals hipotetitzades no es coneixien. No obstant, en els passats 10-15 anys aquest sistema s'ha tornat a recuperar i ja es coneixen moltes dades que comentarem a continuació.

En relació amb l'activació general, les projeccions ascendents de la formació reticular al tàlem van ser l'objectiu de molts estudis ja des que Moruzzi i Magoun (1949; citat a Mesulam *et al.*, 1983) van introduir el concepte de

SRAA ara fa quasi 50 anys. Aquests investigadors van descobrir que el SRAA, amb origen al tronc de l'encèfal, actuava via un relleu en el tàlem desincronitzant l'EEG cortical, és a dir, provocava una interrupció de les oscil·lacions sincronitzades d'alta amplitud i les reemplaçava per ritmes ràpids de baixa amplitud. Per tant, l'estimulació del SRAA activava les neurones i les preparava per a respondre a estímuls externs (com en la vigília) o a interns (com en el son paradoxal) (Steriade i Llinàs, 1988). Més tard es va demostrar que des de l'inici de la sincronització de l'EEG, durant el son, la transmissió sinàptica talamocortical disminueix dràsticament (Steriade, 1987).

Els recents avenços en farmacologia neural i conductual així com en registres intracel·lulars suggereixen que l'arousal o activació pot ser regulat per múltiples i interdependents sistemes de neurotransmissors, els quals s'originen principalment en el tronc de l'encèfal i projecten a àrees corticals i subcorticals. Actualment, la principal raó per rebutjar l'antic concepte monolític del sistema activador és que la pròpia formació reticular comprèn diversos sistemes neuroquímics diferenciats que projecten àmpliament al cervell, si bé amb destins molt específics. Aquests sistemes neuroquímics inclouen el grup cel·lular noradrenèrgic del locus coeruleus, el grup colinèrgic del cervell basal magnocel·lular i del tegmentum, el grup dopaminèrgic de la SN i l'àrea tegmental ventral, el grup serotoninèrgic del rafe dorsal i el grup histaminèrgic de l'hipotàlem tuberomamillar (Marrocco, Witte i Davidson, 1994; Mesulam, 1995). Un intent d'integrar el paper d'aquests sistemes de neurotransmissors ens ho proporcionen els estudis recents de Robbins i col·laboradors (per a una integració dels seus treballs, vegeu Robbins, Everitt, Muir i Harrison, 1992). Aquests autors, utilitzant tasques d'elecció múltiple, proposen que: a) la lesió del sistema noradrenèrgic augmenta la distracció, b) la pèrdua del sistema dopaminèrgic mesolímbic augmenta la latència de la resposta, c) la destrucció del sistema

colinèrgic del cervell basal redueix la precisió de la discriminació i d) les lesions de cèl.lules serotoninèrgiques del cervell augmenten les respostes precipitades o impulsives.

Relacionades amb el sistema activador, ens centrarem principalment en les projeccions colinèrgiques ascendents cap el tàlem degut a constitueixen un dels inputs més importants dels nuclis intralaminars. Les vies d'ACh han rebut molta atenció ja que diversos estudis mostren que les neurones colinèrgiques dels nuclis tegmentals pedunculopòntic i laterodorsal participen en la iniciació del son paradoxal (a través de projeccions descendents), així com en la facilitació de la transmissió sensorial i el bloqueig de l'activitat oscil.latòria rítmica talamocortical, durant els estats associats amb desincronització cortical com la vigília i el son paradoxal (a través de projeccions ascendents al tàlem) (Semba *et al.*, 1990; Steriade *et al.*, 1990). Per tant, aquesta extensa aferència colinèrgica del tàlem constitueix un component essencial del SRAA i pot tenir un paper important en la regulació de l'activació cortical (Mesulam *et al.*, 1983; Sofroniew, Priestley, Consolazione, Eckenstein i Cuello, 1985; Woolf i Butcher, 1986).

Els responsables del relleu talàmic de la informació reticular que va a l'escorça semblen ser els nuclis intralaminars i els de la línia mitja, encara que aquests últims tenen una funció menys important en l'activació cortical tònica (vegeu Mesulam *et al.*, 1983). La relació entre el sistema d'activació i els nuclis intralaminars compta amb diferents tipus d'evidències:

- Estudis neuroquímics i de projeccions
- Estudis d'activitat neuronal
- Estudis clínics i amb lesions.

1.5.1.1. Estudis Neuroquímics i de Projeccions

Molts estudis indiquen que els nuclis intralaminars, i en concret el CM-PF, reben aferències massives que s'originen en neurones del tronc de l'encèfal com les dels grups Ch5-Ch6, que, com hem dit abans, són un component essencial de la formació reticular (vegeu apartat 1.3.1.).

Però no només existeix una relació amb neurones tegmentals sinó que les neurones del PF estan localitzades en una regió molt rica en inputs excitatoris i inhibitoris (espinotalàmics, reticular talàmics, col·liculars, pretectals, parabraqiuals, entopedunculars, etc.) i projecten a l'escorça cerebral (vegeu apartat 1.2.2.). A més, hem de considerar els inputs provinents del locus coeruleus, de la SN i del rafe dorsal, molt relacionats amb els sistemes d'arousal, i els de les vies del dolor, altament activants. Quant a les projeccions del nuclis de rafe, cal tenir present que el PFI manté connexions recíproques amb aquests nuclis. Per tant, podem especular que aquests outputs del PF podrien participar en processos associats al son paradoxal, en els quals està implicat el rafe (Marini i Tredici, 1995). Pel que fa a la informació que prové de la medulla espinal, els camps receptors de les neurones que projecten al nuclis de relleu del tàlem són petits, mentre que els de les que projecten als intralaminars són grans, bilaterals, no organitzats somatotòpicament i poden ser polimodals (per revisió, vegeu Berendse i Groenewegen, 1991). Sembla, doncs, que els nuclis de relleu s'encarreguen d'aspectes discriminatius de la informació ascendent i els intralaminars, en canvi, participen en aspectes afectius no discriminatius de la informació, que són molt importants per a l'alerta de l'organisme.

Totes aquestes connexions van possibilitar que el CM-PF fos considerat com a un component dels sistemes que participen en el relleu de la informació,

dependent de l'estat o el context, que va cap a centres més superiors. A més a més, les neurones encefalinèrgiques trobades en els nuclis intralaminars (vegeu apartat 1.3.5.) podrien estar participant en mecanismes d'arousal i atenció, proporcionant així un substrat anatòmic pels efectes sedatius dels opiacis exògens (Hermanson *et al.*, 1995).

1.5.1.2. Estudis d'Activitat Neuronal

Pel que fa a aquest tipus d'estudis, cal recordar, en primer lloc, els treballs electrofisiològics de Dempsey i Morison (citats a Groenewegen i Berendse, 1994; vegeu apartat 1.2.1.) i els posteriors de Jasper (per revisió, vegeu Jones, 1985) relacionats amb la resposta de reclutament cortical. La conclusió d'aquests estudis va ser que les neurones talamocorticals dels nuclis intralaminars controlen l'activitat rítmica de tot el còrtex. Després d'aquests estudis pioners, i en relació amb els treballs de Moruzzi i Magoun (1949; citat a Mesulam *et al.*, 1983), es va constatar que les àrees corticals activades després de l'estimulació de la FRM eren les mateixes on s'observava reclutament cortical després de l'estimulació de neurones intralaminars, i les mateixes on projectaven especialment els nuclis intralaminars (per referències, vegeu Jones, 1985). També hi ha dades més directes que mostren que l'estimulació de la FRM produeix efectes despolaritzants sobre neurones talamocorticals i un augment de l'activitat metabòlica dels intralaminars (Steriade *et al.*, 1990; Paré *et al.*, 1988). A més a més, els potencials corticals evocats després d'estimular la formació reticular són bloquejats amb lesions del CM (Albe-Fessard i Rougeul, 1958; citat a Macchi i Bentivoglio, 1986). Posteriorment, es va veure que les neurones talamocorticals del complex CM-PF, i també les dels nuclis CL-PC, exerceixen efectes excitatoris (PEPs de curta latència) sobre les seves neurones diana en l'escorça (per revisió, vegeu Paré *et al.*, 1988).

Els resultats de tots aquests treballs suggerien que l'estimulació dels intralaminars podia ser capaç de produir activació o arousal. Efectivament; en diferents experiments (p.ex. Steriade i Glenn, 1982) s'ha pogut observar com l'estimulació artificial o per estímuls sensorials de la FRM o dels intralaminars provoca desincronització de l'EEG així com arousal conductual i el despertar dels animals experimentals. Així mateix, s'ha observat que les neurones corticals que reben inputs intralaminars augmenten la seva activitat en estats conductuals d'atenció o intenció (Hyvärinen, Poranen i Jokinen, 1980). A més a més, en un estudi recent en gats s'observa com després d'estimular el CM els animals mostren arousal i correlats electrogràfics d'un estat d'activació (activació cortical, moviments oculars, ones ponto-geniculo-occipitals i espasmes mioelèctrics) (Mancia i Marini, 1995). Així mateix, un altre estudi també recent, realitzat amb tomografia d'emissió de positrons, va mostrar una activació de nuclis intralaminars (CM i CL) quan els subjectes humans passaven d'un estat relaxat a la realització d'una tasca de temps de reacció que requeria d'alerta i atenció (Kinomura, Larsson, Gulyás i Roland, 1996). Aquests resultats fan pensar que els nuclis intralaminars poden representar una continuació rostral del SRAA del tronc de l'encèfal i que tant els nuclis mesencefàlics com els intralaminars controlen no només la transició del son a l'estat d'alerta, sinó també la transició d'estats relaxats durant la vigília a estats d'atenció general.

Finalment, el grup de Steriade ha observat que l'EEG d'un cervell activat (quan un animal està mirant una presa, durant la realització d'una resposta condicionada, abans de realitzar una tasca complexa, etc.) no consisteix simplement en la interrupció de les ones sincronitzades, sinó que també inclou l'aparició d'ones gamma, que són oscil·lacions periòdiques, ràpides (d'uns 30-40 Hz), amb amplituds una mica superiors a les ones de fons (Steriade, Amzica i Contreras, 1996). Aquestes ones, també anomenades ritme de 40 Hz, es donen

sincronitzadament en diferents regions que estan processant la mateixa informació. Això ens indica que podrien ajudar al processament d'estímuls que normalment es processen en paral·lel o estímuls complexos, processament que pot ser important en l'aprenentatge i la memòria. Recentment, els nuclis intralaminars han estat relacionats amb la producció d'oscil·lacions gamma en l'escorça ja que s'ha vist que en neurones intralaminars que projecten al còrtex es produeixen aquestes ones, les quals es sincronitzen amb les oscil·lacions de les neurones corticals (Steriade, Contreras, Amzica i Timofeev, 1996). A més, l'estimulació de nuclis colinèrgics mesopontins pot potenciar les ones gamma en l'EEG cortical actuant sobre receptors talàmics muscarínics. Aquesta facilitació és transmesa via els nuclis talàmics ja que si es lesionen estructures del cervell basal, a les que també projecten les neurones colinèrgiques del tronc de l'encèfal, no s'observa el fenomen (Steriade, Curró Dossi, Paré i Oakson, 1991).

Després d'aquests descobriments s'ha suscitat un debat centrat en la qüestió de qui constitueix la principal font d'oscil·lacions gamma, el còrtex o el tàlem. Tal com Barth i MacDonald (1996) mostren, l'escorça pot generar les seves pròpies oscil·lacions gamma, fins i tot en absència d'inputs intralaminars, si bé els intralaminars posteriors les poden modular. Aquests investigadors proposen un paper més subtil per als intralaminars que el de simples controladors de les oscil·lacions corticals i suggereixen que poden ser essencials per a coordinar l'activitat entre diferents àrees del còrtex, i així contribuir a la formació de percepcions globals d'estímuls complexos (Steriade, 1996). Aquestes dades concorden amb la idea de Singer (1994) que indica que el tàlem representa quelcom més que la porta (tancada durant el son i oberta durant la vigília) a través de la qual els senyals passen al còrtex i suggereix que la sincronització talàmica és important per al processament cortical.

1.5.1.3. *Estudis Clínics i amb Lesions*

Després d'haver repassat els estudis esmentats fins aquí, podem pensar que quan es tallen els impulsos que s'originen en els intralaminars es creen condicions favorables per a processos de desactivació. Sembla ser que sí, ja que les dades provinents d'estudis de lesions dels intralaminars són similars a les que trobem en el cas de lesions de la FRM, que com sabem és una regió cerebral que participa en l'arousal tònic.

Així, en humans, una lesió vascular bilateral en el tàlem medial que principalment afectà els intralaminars, i parcialment la SGP, va provocar una síndrome letàrgica amb hipersomnia durant un període de tres anys (Façon, Steriade, i Wertheim, 1958). Recentment s'ha observat que una pacient que presentava una lesió discreta dels nuclis intralaminars posteriors era extremadament susceptible a la distracció, la qual cosa l'impedia la realització de més d'un procés cognitiu simultàniament. Aquests dèficits van ser atribuïts a la deficiència, induïda per la lesió dels intralaminars caudals, en el reclutament selectiu de sistemes neuronals corticals (Mennemeier, Crosson, Williamson, Nadeau, Fennell, Valenstein i Heilman, 1997). D'altra banda, les lesions electrolítiques del complex CM-PF en primats produeixen una reducció de la sensibilitat a estímuls externs (síndrome de negligència sensorial) i una falta de comportament espontani (síndrome d'hipoquinèsia) (Watson, Miller i Heilman, 1978). Igualment s'han descrit casos de negligència sensorial en humans després d'accidents vasculars que afecten diferents nuclis talàmics, entre ells el CM-PF (Watson, Valenstein i Heilman, 1981). Se sap que molts dels símptomes associats amb la síndrome de negligència són resultat de dèficits tant en l'atenció-arousal com en l'activació-intenció (Watson *et al.*, 1981).

Com hem vist, l'activació és controlada en gran part per un sistema que s'origina en el tronc de l'encèfal i que projecta, realitzant un relleu sinàptic en els intralaminars, a l'escorça cerebral, augmentant la seva excitabilitat. Així, la raó per la qual ens despertem a causa d'un fort estímul sensorial és que l'estímul pot activar extenses àrees corticals via un circuit que implica les neurones reticulars del tronc de l'encèfal, les quals exciten neurones intralaminars que projecten els seus axons al còrtex. Per tant, les projeccions de neurones mesopontines colinèrgiques al tàlem (el PF inclòs) semblen ser un component important dels mecanismes participants en control de l'estat cerebral, i estan relacionades amb el control dels estats d'arousal, atenció i cicle son/vigília que s'associen clàssicament a desincronització de l'EEG (Bolton *et al.*, 1993). En aquest sentit, s'ha suggerit que les neurones colinèrgiques preparen i mantenen l'activació tònica cortical durant la vigília i el son paradoxal despolaritzant directament neurones talamocorticals i inhibint el NRT, que sembla ser el generador d'oscil·lacions sincronitzades (Steriade *et al.*, 1990).

En resum, la participació dels nuclis intralaminars, i en concret del CM-PF, en un sistema activador ascendent està avalada per diferents tipus d'evidències, tant neuroanatòmiques com electrofisiològiques. Aquestes últimes, ens suggereixen que la funció concreta dels intralaminars dins d'aquest sistema podria ser la coordinació de diferents regions corticals que processen la mateixa informació. No obstant, encara resten per conèixer molts aspectes com per exemple de quina manera els estímuls inicien les oscil·lacions gamma o quin és el paper precís del CM-PF.

1.5.2. Sistema dels Ganglis Basals

Els ganglis basals són un conjunt d'estructures subcorticals que s'associen al control del comportament psicomotor i ja des de principis d'aquest segle trobem descripcions de trastorns greus de les funcions motores causats per lesions en aquestes estructures (Parent *et al.*, 1995). No obstant, cada vegada existeix més acord en considerar que els ganglis basals participen, a part d'en funcions estrictament sensoriomotors, en funcions motivacionals i cognitives (Percheron, Fénelon, Leroux-Hugon i Fève, 1994). Per exemple, s'ha vist que participen en la incitació a actuar (Percheron *et al.*, 1994; Robbins, Cador, Taylor i Everitt, 1989), en l'atenció selectiva i control de l'estat d'activació (Barker, 1988), en aspectes condicionals de la planificació dels moviments, en la selecció de programes i la memòria motora (Graybiel, 1990) i en l'adquisició i retenció de coneixement procedimental (Phillips i Carr, 1987). En aquest sentit, recentment s'ha posat de manifest en humans que l'estriat és important no només per a l'aprenentatge d'hàbits motors sinó també per a l'adquisició d'hàbits no motors que depenen de noves associacions, és a dir, participa en l'adquisició d'estratègies cognitives de consolidació gradual que necessiten repetició (Knowlton, Mangels i Squire, 1996; Robbins, 1996).

La majoria d'estudis que tractarem van ser realitzats en gats i primats perquè tant l'estriat com els intralaminars estan molt ben diferenciats i són prominents en aquestes dues espècies. En rates, en canvi, les poblacions neuronals dels ganglis basals són més homogènies. Pel que fa a les relacions concretes del CM-PF amb el sistema dels ganglis basals (vegeu apartat 1.2.), aquest complex rep fibres de diferents estructures d'aquest sistema incloent-hi moltes del GPi (nucli entopeduncular) i inputs més modestos de la SN i de l'estriat. Considerant aquestes aferències així com les ben conegudes i extenses

referències del CM-PF a l'estriat, al NST i al GP, el CM-PF sembla estar lligat molt íntimament a les funcions dels ganglis basals i es pot considerar com una part d'aquest sistema (Kincaid *et al.*, 1991; Parent, 1990).

1.5.2.1. Organització Paral.lela dels Circuits Ganglis Basals-Talamocorticals

Fa uns anys es pensava que els ganglis basals tenien la funció d'integrar les influències convergents de diferents àrees corticals i dirigir-les cap al tàlem, però darrerament s'accepta més el concepte d'organització paral.lela de les connexions dels ganglis basals. Aquest concepte indica que els ganglis basals, juntament amb les àrees corticals i talàmiques amb les que connecten, comprenen una família de circuits organitzats de manera paral.lela i bastant segregats tant estructural com funcionalment (Alexander i Crutcher, 1990; Groenewegen i Berendse, 1994; Parent 1990). El sistema dels ganglis basals incorpora, doncs, diferents circuits, éssent el circuit motor simplement un d'ells, com ho són el circuit oculomotor, el prefrontal o el límbic. Seguint aquesta concepció, l'estriat ha estat subdividit, en base a les seves projeccions diferencials, en diferents territoris: sensoriomotor, associatiu i límbic (Fénelon *et al.*, 1991; Parent, 1990).

No obstant, la posició que sembla més correcta respecte l'organització d'aquest sistema és la intermitja -com és habitual- ja que el terme circuit no implica una via rígida i tancada (que comença i acaba en la mateixa àrea cortical), sense connexions amb altres estructures, sinó que aquests circuits poden tenir un caràcter obert i interaccionar amb estructures que pertanyen a d'altres circuits paral.lels. Per exemple, el circuit motor conté un "circuit tancat" que comença i acaba en àrees corticals motores i premotors i també un "circuit

obert" que acaba en el còrtex prefrontal (Joel i Weiner, 1994). A continuació presentem (figura 1.5,1) un diagrama simplificat del circuit motor segons Alexander i Crutcher (1990).

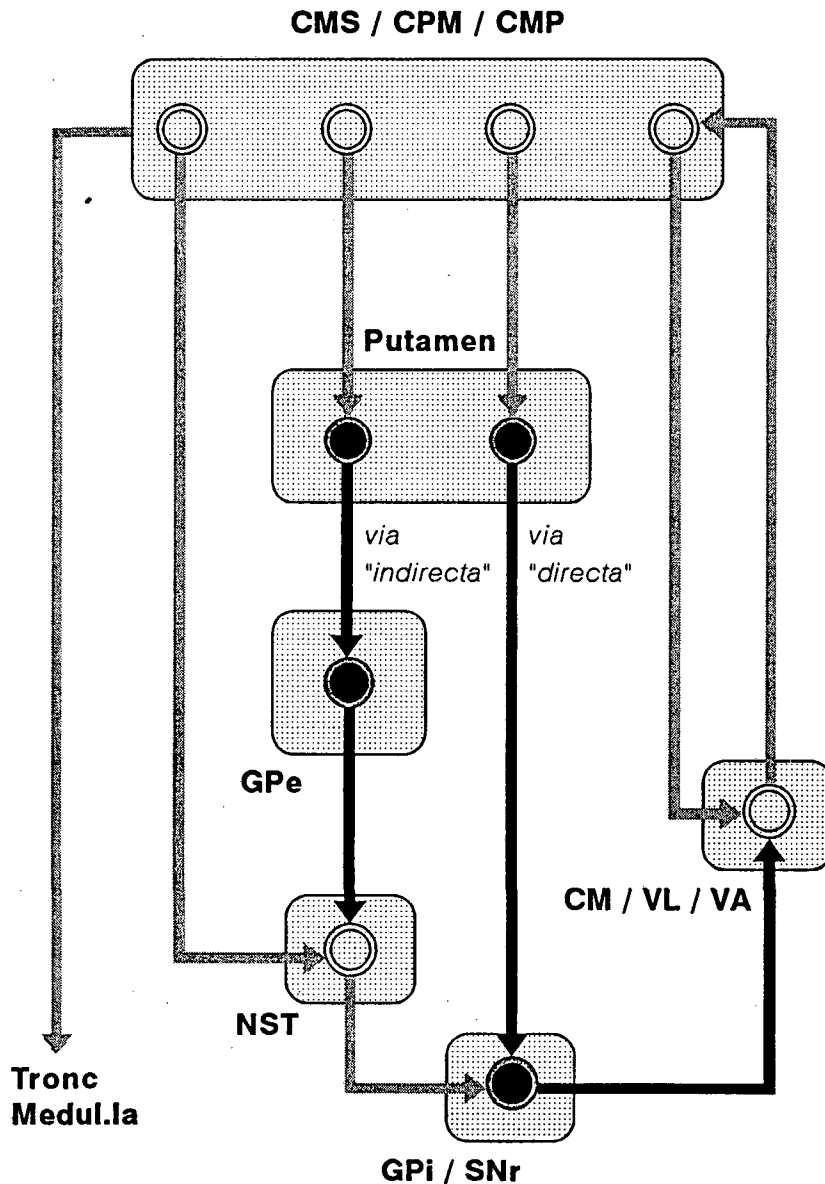


Figura 1.5,1. Diagrama simplificat del circuit motor. Les àrees corticals que projecten a l'estriat inclouen només el "circuit tancat". Hi ha un "circuit obert" addicional amb inputs corticoestriats al circuit motor que s'originen en altres àrees de l'escorça. Les neurones inhibidores són plenes i les excitatòries buides. (CM: nucli centremitjà; CMP: còrtex motor primari; CMS: còrtex motor suplementari; CPM: còrtex premotor; GPe: segment extern del globus pal.lidus; GPi: segment intern del globus pal.lidus; NST: nucli subtalàmic; SNr: substància negra pars reticulata; VA: nucli ventral anterior; VL: nucli ventral lateral. Adaptat de Alexander i Crutcher (1990).

Quant als intralaminars, aquests nuclis podrien tenir una funció global en el sistema ganglis basals-talamocortical. Per exemple, gràcies a inputs no selectius, en particular de nuclis colinèrgics del tronc de l'encèfal, el grup d'intralaminars pot actuar conjuntament per tal de modificar el nivell d'activitat del sistema ganglis basals-talamocortical. En aquest sentit, Groenewegen i Berendse (1994) especulen que els aspectes no discriminatius de la informació, que ascendeixen via els intralaminars, poden preparar l'estriat per a un imminent input cortical o poden disparar la primera resposta conductual que serà modificada després per l'input cortical integrat.

Malgrat això, se sap que els nuclis individuals interactuen selectivament amb els circuits funcionalment diferents del sistema dels ganglis basals. Així, tal com podem observar en la figura 1.5,2 i en les connexions descrites en l'apartat 1.2.2., les projeccions del PFl i del PFm (o CM i PF) presenten un patró complementari.

D'una banda, el CM rep inputs bilaterals del còrtex motor i envia una projecció ipsilateral massiva als còrtex motor i premotor. El GPI, que és una de les majors fonts de projecció dels ganglis basals al tàlem motor, també projecta al CM. El CM projecta a l'àrea sensoriomotora del caudat-putamen, a l'escorça sensoriomotora, al GP lateral i al NST lateral, el qual té connexions recíproques importants amb estacions nigral i pal·lidals del circuit motor. En aquest context, s'ha demostrat en rates que l'estimulació del PFl participa en la regulació de la inhibició motora i que aquest efecte és bloquejat per lesions del rafe (Mileikovsky, Verevkina i Nozdrachev, 1994). Aquest tipus de circuit motor pot ser modulats per inputs al CM provinents del NRT i de nuclis serotoninèrgics i noradrenèrgics del tronc de l'encèfal. Degut a que aquestes aferències talàmiques participen en fenòmens generals com el cicle son-vigília i l'atenció, podem

postular que aquestes projeccions modulen de manera estat-dependent l'activitat de les neurones del CM i indirectament les de les neurones estriades. A més a més, el CM rep informació de l'àrea pretectal, de nuclis vestibulars, dels CS i transmet aquesta informació sensorial a l'estriat, informació que està relacionada amb la iniciació, organització i execució de respostes que formen part de l'orientació postural. Així, aquestes neurones del CM poden posar al sistema ganglis basals-talamocortical en un estat d'alerta necessari per a realitzar ajustaments posturals i moviments en resposta a canvis en l'ambient (Mancia i Marini, 1995; Grunweg i Krauthamer, 1992; Yamasaki i Krauthamer, 1990).

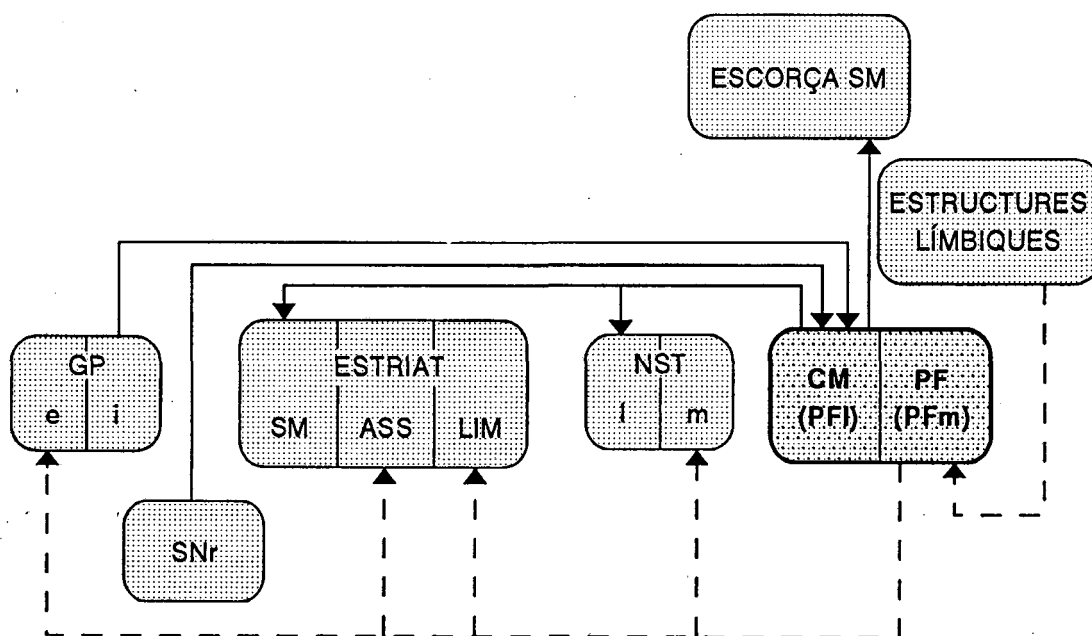


Figura 1.5,2. Esquema on es representen les principals connexions del CM-PF amb el sistema dels ganglis basals. Les línies contínues fan referència a connexions del CM i les discontinues a les del PF. (ASS: associatiu; CM: nucli centremitjà; GPe: segment extern del globus pallidus; GPi: segment intern del globus pallidus; LIM: límbic; NSTl: part lateral del nucli subtalàmic; NSTm: part medial del nucli subtalàmic; PF: nucli parafascicular del tàlem; PFl: part lateral del nucli parafascicular; PFm: part medial del nucli parafascicular; SM: sensoriomotor; SNr: part reticulada de la substància negra).

D'altra banda, el PF (PFm) rep el seu input principal del camp ocular frontal i el camp ocular frontal suplementari, així com inputs menys densos dels còrtex premotor i prefrontal. A la vegada, projecta a les escorces cingulada anterior, premotora, prefrontal i camp ocular frontal. A nivell subcortical rep fibres dels CS i envia projeccions a l'estriat associatiu i límbic, al GP ventral, al NSTm i a la SN. Aquestes connexions suggereixen que el PF participa en processos oculomotors, cognitius i límbics. En aquest sentit, Legg (1986) va observar que lesions del tàlem medial (que afectaven el PF) provocaven dèficits visomotors.

1.5.2.2. La Desinhibició com a Mecanisme d'Expressió dels Ganglis Basals

La interpretació de l'organització funcional del sistema dels ganglis basals és complicada i una de les raons és que la majoria de neurones d'aquest sistema utilitza GABA com a neurotransmissor inhibitori. El problema va ser resolt, almenys en part, amb un treball de Chevalier i Deniau (1990), on van proposar que l'estriat s'expressa mitjançant un mecanisme desinhibitori (figura 1.5,3). La hipòtesi té en compte el fet que les neurones de la SNr i del GPi emeten un flux regular d'impulsos mentre que la majoria de neurones de l'estriat són "mudes", excepte quan són activades per l'input glutamatèrgic de l'escorça cerebral. Quan són activades per l'escorça, les neurones de l'estriat influeixen de manera inhibidòria sobre el GPi i la SNr, que estaven inhibint tònicament l'activitat talamocortical. Després de l'activació de la projecció disínaptica estriat-pàl·lid-tàlem, les neurones talamocorticals glutamatèrgiques són lliures per a respondre als seus inputs, particularment als relacionats amb la generació de moviments. D'igual manera, les neurones dels nuclis troncoencefàlics també poden ser

desinhibides gràcies a l'excitació de neurones de l'estriat (Parent i Hazrati, 1995). Aquestes observacions han portat a la conclusió que els ganglis basals contribueixen a la iniciació de moviments mitjançant un mecanisme de desinhibició i ha rebut recolzament de dades sobre la funció oculomotora (Hikosaka, 1991). De moment, no coneixem els efectes concrets de l'activació de l'estriat en altres circuits del sistema dels ganglis basals.

Quant al paper del CM-PF, aquest complex es troba en una situació crucial exercint una poderosa i altament ordenada influència excitatòria directa sobre neurones de projecció de l'estriat (Parent *et al.*, 1995; Sadikot *et al.*, 1992b). Així, el CM-PF pot influir l'output de l'estriat almenys de dues maneres (Lapper i Bolam, 1992). Primer, per una ruta directa; les fibres del CM-PF fan contacte sinàptic directe amb neurones de projecció de l'estriat. La segona ruta és indirecta, via interneurones colinèrgiques, sobre les que el CM-PF contacta. Aquestes interneurones, al seu torn, fan contacte sinàptic directe amb neurones estriades de projecció. La conseqüència de l'estimulació de la ruta directa sembla ser la inhibició d'estacions output dels ganglis basals (GPi i SNr), fenomen que es traduirà en una desinhibició d'estructures diana del pàl·lid i la SN, com són el tàlem, el NST, els CS i el nucli tegmental pedunculopòntic (Sadikot *et al.*, 1992b). La possible resposta de l'activació de la segona ruta ha de ser investigada.

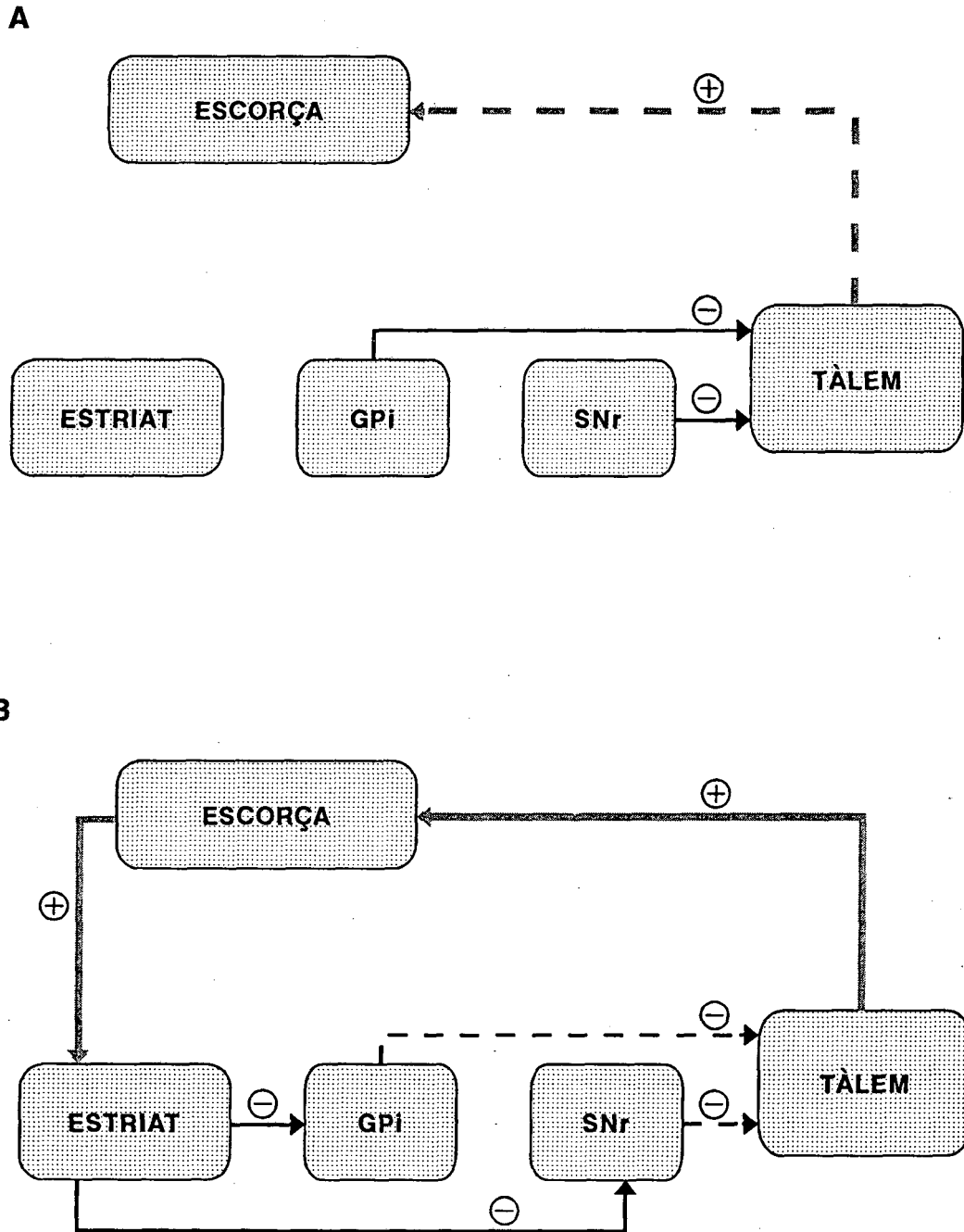


Figura 1.5.3. Esquema que representa la hipòtesi de Chevalier i Deniau (1990). (A) Si no hi ha excitació de l'estriat per part de l'escorça les neurones talamocorticals estan inhibides (línia discontinua). (B) Si l'escorça excita l'estriat, aquest, mitjançant una inhibició de neurones pal.lidofugals i nigrofugals, desinhibeix les neurones talamocorticals, les quals ara poden excitar l'escorça. (GPI: segment intern del globus pallidus; SNr: part reticulada de la substància negra).

Tanmateix s'ha de tenir en compte que les projeccions CM-PF-estriat són específiques i això ens indica que cada part del complex pot tenir una influència selectiva en subgrups neuronals de l'estriat. Per tant, l'efecte net de l'excitació del CM o del PF sobre l'activitat dels ganglis basals variarà en funció de quina població de les cèl.lules output de l'estriat siguin estimulades -les sensoriomotors, les límbiques o les associatives- (Sadikot *et al.*, 1992b). En aquest sentit, i d'acord amb el model proposat per Chevalier i Deniau (1990), recentment s'ha demostrat que l'activació del CM facilita els moviments perquè es redueix la inhibició talamocortical (figura 1.5,4) (Sibidé i Smith, 1996).

A part de les dues vies d'influència sobre l'estriat, hem de recordar que el CM-PF també afecta l'activitat del NST ja que s'ha vist que el CM-PF regula a través de sinapsis glutamatèrgiques la descàrrega basal de les neurones subtalàmiques (Mouroux *et al.*, 1995). El NST excita les neurones del GPi, per tant la seva activació redueix els moviments (Parent i Hazrati, 1995).

De tot l'anterior podem dir que encara cal caracteritzar millor el paper funcional concret del CM-PF en tots els circuits esmentats, si bé de moment podem extreure quatre conclusions principals:

- 1) La influència del CM-PF sobre diferents estructures del sistema dels ganglis basals, especialment sobre l'estriat, és excitatòria i està mediada per glutamat.

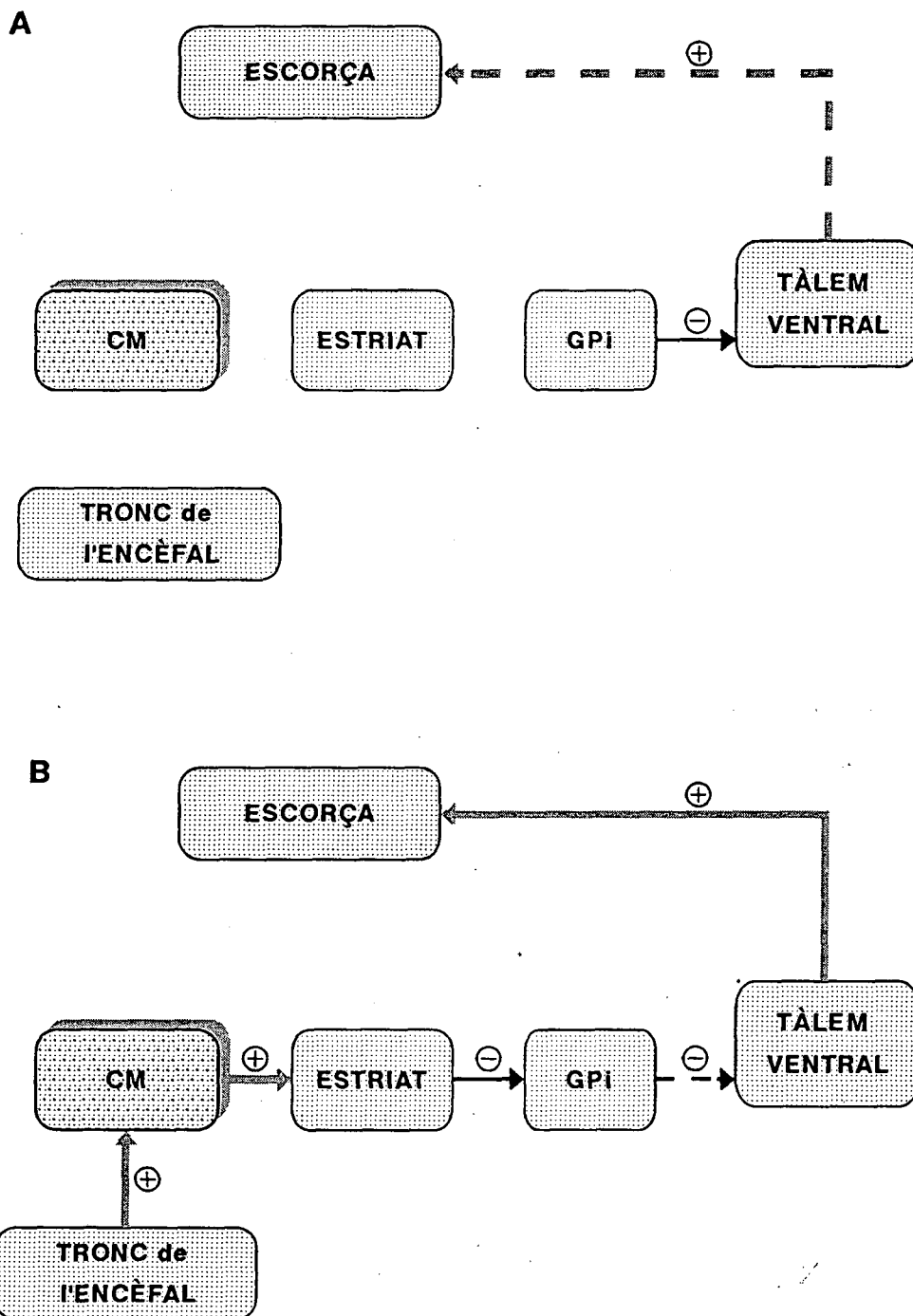


Figura 1.5,4. Esquema que representa el circuit dels ganglis basals amb el que està relacionat el CM. (A) Quan no hi ha excitació de l'estriat les neurones talamocorticals es troben inhibides (línia discontinua). (B) L'activació del CM modula l'activitat de les neurones estriato-pal·lidals, de manera estat-dependent ja que rep inputs de nuclis troncoencefàlics com el tegmental pedunculopontic. L'activació d'aquesta via desinhibeix neurones talamocorticals i, per tant, pot facilitar els moviments. (CM: nucli centremitjà; GPI: segment intern del globus pallidus).

2) El PFl (CM) i el PFm (PF) participen de manera altament ordenada i complementària en el processament paral·lel de la informació que flueix a través dels ganglis basals, és a dir, modulen selectivament l'activitat de circuits ganglis basals-talamocorticals específics: el PFl constitueix un enllaç crucial en el circuit sensoriomotor, mentre que el PFm és un relleu important en la circuiteria oculomotora, associativa i límbica dels ganglis basals.

3) El fet que el PFl i el PFm participin en funcions específiques no exclou la possibilitat, o fins i tot la necessitat, que en certs estats conductuals aquests nuclis actuïn en concert.

4) L'efecte de l'activació del complex CM-PF sembla ser la desinhibició de neurones diana dels ganglis basals, com per exemple les talamocorticals.

1.5.3. Sistema de Supressió del Dolor

El PF s'ha relacionat amb els mecanismes del dolor i l'analgèsia, i ha estat considerat com un centre integratiu en la nocicepció (Liu, Qiao i Dafny, 1993). Clínicament s'ha demostrat que l'estimulació elèctrica del tàlem medial, per exemple del complex CM-PF, és efectiva per alleujar el dolor crònic en humans, així com també ho és l'estimulació d'altres estructures com la SGP, el nucli dorsal del rafe, la SN o el nucli ventral posterolateral del tàlem (Andy, 1980; Bhatnagar i Andy, 1989; Sakata, Shima, Kato i Fukui, 1988; Sim i Joseph, 1993). Així mateix, diferents estudis amb animals de laboratori demostren una disminució de les reaccions aversives indicatives de dolor després de l'estimulació elèctrica del CM-PF (Andy, 1980; Mayer, Wolfle, Akil, Carder i Liebeskind, 1971), encara que, en funció dels paràmetres d'estimulació, els efectes poden ser diferents i fins i tot contraris (Kaelber, Mitchell, Yarmat, Afifi i Lorens, 1975). A més a més, les reaccions aversives als estímuls nociceptius es poden suprimir amb una microinjecció local de morfina en el CM-PF, en rates (per revisió, vegeu Koyama *et al.*, 1995a). També s'ha vist que l'ablació bilateral del PF elimina l'acció analgèsica de la cocaïna, mediada per la DA (Shyu, Kiritsy-Roy, Morrow i Casey, 1992).

La lesió del CM-PF també s'ha mostrat efectiva per disminuir el dolor crònic de determinats pacients, com els que pateixen "dolor central" o "dolor per desafereciació" (Jeanmonod, Magnin i Morel, 1996; Mark, Ervin i Yakovlev, 1983; Young, Jacques, Rand, Copcutt, Vermeulen i Posewitz, 1995). Això sembla ser causat perquè aquests pacients presenten hiperactivitat neuronal espontània en els nuclis intralaminars degut a la pèrdua d'inhibició aferent (Jeanmonod *et al.*, 1996; Rinaldi, Young, Albe-Fessard i Chodakiewitz, 1991).

A més a més, en primats també s'ha observat que la lesió del CM augmenta el llindar de fugida d'un xoc elèctric (Marburg, 1973).

D'altra banda, a nivell cel.lular s'ha observat que el PF dels primats, gats i rates respon a estímuls nociceptius perifèrics ja que aquests poden modificar la taxa espontània de respostes de les neurones del nucli (Andersen i Dafny, 1983; Qiao i Dafny, 1988) i incrementar l'expressió de la proteïna c-fos, indicadora d'activitat neuronal (per referències, vegeu Sim i Joseph, 1992). També s'ha observat que l'aplicació microiontoforètica de morfina així com la injecció sistèmica de cocaïna redueixen la resposta neuronal del PF als estímuls dolorosos (Reyes-Vazquez *et al.*, 1986; Sakata, Shima, Kato i Fukui, 1989; Shyu *et al.*, 1992). Les neurones del PF poden ser classificades en tres tipus segons les seves respostes a l'estimulació nociceptiva: *nociceptive-on* (o *pain-excited neurons*), *nociceptive-off* (o *pain-inhibited neurons*) i *non-nociceptive* (Bian *et al.*, 1993a; Dougherty, Qiao, Wiggins i Dafny, 1990; Liu *et al.*, 1993). Les cèl.lules *nociceptive-on* responen als estímuls dolorosos augmentant les seves taxes de resposta, mentre que les cèl.lules *nociceptive-off* mostren la reacció contrària, és a dir, disminueixen les seves taxes de resposta. Les cèl.lules *non-nociceptive* no mostren cap canvi en les seves taxes de resposta després dels estímuls nociceptius. En relació amb aquestes varietats de neurones, s'ha observat que l'electroacupuntura suprimeix l'activitat de les cèl.lules *nociceptive-on* i excita la de les *nociceptive-off* (Bian *et al.*, 1993a,b).

Fins el moment, la regió sobre la que més s'ha centrat l'atenció com a possible centre del sistema endògen de la supressió del dolor ha estat la SGP. Sembla ser que l'efecte analgèsic produït per l'estimulació elèctrica o química de la SGP està mediat per l'excitació de les neurones d'alguns nuclis del rafe, principalment el nucli magnus i el nucli dorsal, resultant en una inhibició de les

neurones nociceptives de la banya dorsal de la medul·la espinal (Sakata *et al.*, 1988). Pel que fa als estudis neuroanatòmics del PF, alguns autors citen els inputs provinents de la formació reticular, de la SGP, dels nuclis del rafe, del complex trigeminal i de la medul·la espinal -fibres espinotalàmiques- per recolzar la idea de què el CM-PF participa en la nocicepció o l'antinocicepció (vegeu apartat 1.2.2.). El que no està molt clar, però, és el mecanisme que provoca l'efecte analgèsic després de l'estimulació del PF. En aquest sentit, s'ha demostrat que l'estimulació elèctrica del PF provoca respostes excitatòries en un 83% de les neurones de la SGP, és a dir, el PF pot modular l'activitat de les neurones de la SGP que responen a l'estimulació nociceptiva (Sakata *et al.*, 1989). Aquesta excitació de les neurones de la SGP pot ser suprimida amb l'administració de naloxona, implicant així el sistema dels opiacis endògens en aquesta resposta (Dougherty *et al.*, 1990). Tenint en compte que moltes neurones de la SGP projecten als nuclis del rafe, diversos investigadors suggereixen que el PF exerceix els seus efectes analgèsics a través d'aquesta via descendent (Sakata *et al.*, 1988; Sim i Joseph, 1992).

A part, també s'ha demostrat que l'estimulació elèctrica de diferents àrees com el rafe, la SGP, la SN i els CS, entre altres, provoca canvis en la sensibilitat de les neurones del PF als estímuls nociceptius, gràcies a les vies ascendents de supressió del dolor (per revisió, vegeu Liu *et al.*, 1993). Concretament, l'estimulació del nucli dorsal del rafe i de la SGP produeix un decrement de la taxa de resposta espontània de les cèl·lules del PF classificades com nociceptive-on. A més, si l'estimulació -de baixa intensitat- del nucli dorsal del rafe o de la SGP es combina amb l'estimulació nociceptiva es produeix una inhibició de l'increment de la taxa de resposta, produït per la presentació d'un estímul dolorós, en les cèl·lules nociceptive-on (Andersen i Dafny, 1983). Pel que fa a la SN, s'ha vist que la seva estimulació també suprimeix les respostes espontànies

i les evocades per l'estimulació nociceptiva de les cèl.lules nociceptive-on del PF; en les nociceptive-off la mateixa estimulació elicitava una supressió més prominent en els dos tipus de resposta (Li, Ji, Qiao, Dafny, 1992). Quant als CS, l'activació de determinades capes redueix les respostes nociceptives de les neurones del PF: inhibeix la taxa de respostes de les nociceptive-on, mentre que desinhibeix la de les nociceptive-off (Zhang, Xie i Qiao, 1991).

S'ha hipotetitzat que l'efecte modulador del rafe sobre el PF podria estar mediat per la 5-HT ja que l'aplicació local de 5-HT en el PF provoca un decrement en les respostes del nucli a l'estimulació nociceptiva, mentre que la disminució de la 5-HT en el PF provoca un augment de les respostes neuronals (Andersen i Dafny, 1983). A més a més, l'aplicació d'un antagonista serotoninèrgic evita els efectes que provoca l'estimulació del rafe dorsal sobre l'activitat del PF davant d'estímuls nocius (Dafny, Reyes-Vazquez i Qiao, 1990; Reyes-Vazquez, Qiao i Dafny, 1989).

Tot l'anterior ha portat a considerar dues possibles vies modulatòries del dolor que s'activen amb l'estimulació del PF: a) la clàssica via descendent de supressió del dolor, i b) vies ascendents de supressió del dolor de transmissió multisinàptica. No obstant, cada cop hi ha més acord en considerar que el tàlem medial no constitueix una regió essencial per a la percepció del dolor, els aspectes discriminatius dels estímuls nociceptius o la coordinació de la resposta motora a aquests estímuls. Així, les lesions del PF no afecten les respostes de dolor en diferents tipus de proves (Shyu *et al.*, 1992). En canvi, la implicació del PF sembla consistir en la modulació del dolor i ser secundària a la seva participació en l'arousal i els aspectes no discriminatius i afectius de la informació (Groenewegen i Berendse, 1994; Koyama, Nishikawa, Chua, Iwamoto i Yokota, 1995b). Aquests darrers aspectes poden ser necessaris per tal d'alertar

l'organisme sobre situacions noves i potencialment perilloses. En aquest sentit, Barker (1988) proposa que les neurones situades per sobre de la medulla espinal que responen a l'estimulació nociva són probablement les mateixes que intervenen en els processos d'atenció i selecció de la informació.

1.5.4. Substrat Nerviós del Reforç

El tàlem ha estat omès durant molt de temps en la literatura sobre la conducta d'AEIC, si bé alguns indicis suggereixen que el tàlem, i concretament el PF, podria participar en el processament central del reforç. Aquests indicis inclouen:

- a) L'existència de projeccions recíproques entre el PF i zones del còrtex que elíciten la conducta d'AEIC (Vives *et al.*, 1983).
- b) Les projeccions del PF, i d'altres nuclis talàmics, tant a l'hipotàlem lateral com a dos nuclis molt relacionats amb el FPM, com ara l'accumbens i l'àrea tegmental ventral (Clavier i Gerfen, 1982; vegeu apartat 1.2.2.2.).
- c) La suggerència que l'AEIC mesocortical pot estar sota influència talàmica (Gerfen i Clavier, 1979, citat a Zacharko *et al.*, 1990).
- d) La innervació recíproca entre la SN i el PF (vegeu apartat 1.2.2.)

e) La constatació d'un canvi en l'activitat de neurones del tàlem medial associat amb l'estimulació elèctrica del FPM (Casey i Keene, 1973; Keene, 1973a,b; Keene i Casey, 1973).

f) La identificació d'una via ascendent que relaciona el tàlem amb la conducta d'AEIC, la qual s'estèn des del tronc de l'encèfal fins a nuclis talàmics, el ventromedial i el dorsomedial, viatjant adjacent al PF (vegeu Clavier i Gerfen 1982).

g) La demostració de què l'estimulació del nucli PF és susceptible de provocar la conducta d'AEIC (Clavier i Gerfen, 1982; Vachon i Miliaressis, 1992; Zacharko *et al.*, 1990).

Pel que fa als treballs de Keene i Casey (Casey i Keene, 1973; Keene, 1973a,b; Keene i Casey, 1973), aquests investigadors descriuen que els intralaminars reben informació de dos sistemes relacionats amb conductes motivacionals oposades. D'una banda, els hi arriben col.laterals de l'hipotàlem lateral (l'estimulació del qual és capaç de provocar la conducta d'AEIC en rates i sensacions de plaer en humans) i, d'altra banda, reben fibres procedents de neurones de la FRM (l'estimulació de la qual pot provocar respostes de fugida en rates i sensacions desagradables en humans). En diferents estudis van observar que l'estimulació reforçant del FPM i l'aversion de la FRM produïen efectes oposats sobre l'activitat neuronal del PF, d'altres nuclis intralaminars i del nucli mediodorsal. Van dur a terme un experiment, sota condicions de *cerveau isolé*, que consistia en enregistrar l'activitat electrofisiològica de diferents nuclis cerebrals després d'haver estimulat el FPM i les neurones reticulars amb freqüències d'estimulació que en condicions normals provocaven respostes d'AEIC i de fugida respectivament. Els resultats van mostrar que en cada unitat

neuronal del PF convergien els efectes inhibitoris, que eren conseqüència de l'estimulació del FPM, juntament amb els efectes excitatoris, provocats per l'estimulació de la FRM. La disminució i l'augment de la taxa de resposta observats van ser de llarga durada, assolint temps similars a aquells de les sensacions subjectives produïdes pels estímuls reforçants.

Així doncs, els estímuls motivacionals, tant aversius com reforçants, podrien convergir en una mateixa estructura cerebral, el PF. Segons les reproduccions de les localitzacions anatòmiques de la zona del PF on es van trobar les esmentades activitats oposades, la part del PF associada a aquests efectes sembla ser la lateral (Keene, 1973a). És a dir, les neurones del PF lateral podrien ser importants per a la integració de mecanismes de la recompensa i del dolor, actuant mitjançant un decrement o un increment prolongat de la seva taxa de resposta, en funció dels inputs reforçants o aversius rebuts.

Quant a la possibilitat que el propi PF pugui ser un nucli l'estimulació del qual provoqui la conducta d'AEIC, comptem amb alguns treballs al respecte, que descriurem a continuació. Zacharko *et al.* (1990) van realitzar un experiment en ratolins, en el qual els animals van passar per unes sessions de modelament de la conducta. Després van respondre amb intensitats de corrent que anaven de 15 a 30 μA , variables de 5 en 5 μA , durant almenys cinc dies d'entrenament. La freqüència també la podien variar de 5 en 5 Hz, començant amb 70 Hz. En tres ratolins van observar AEIC en el PF. La mitjana de la taxa de resposta va ser de 212 respostes per minut i la mitjana de dies per assolir el criteri fixat va ser de 14 dies. Segons les anàlisis histològiques, un ratolí presentava l'elèctrode en el PFm, mentre que els altres dos el tenien implantat en el PFI.

Clavier i Gerfen (1982) van sotmetre els animals experimentals (rates) a un mínim de 21 dies d'assaigs pre-test que duraven almenys dues hores, a no ser que els subjectes realitzessin 100 respostes en un dia. La intensitat de corrent en aquestes sessions va ser d'uns $55 \mu\text{A}$. Posteriorment es van realitzar sessions de 15 minuts d'AEIC amb una intensitat de corrent a la qual les rates responien amb una taxa estable de resposta. Amb aquestes condicions, tres dels cinc llocs provats en el PF van mostrar AEIC. Els elèctrodes estaven situats dins del nucli just en el marge lateral del FR, en la coordenada àntero-posterior -4.30 mm posterior a bregma. Cal notar que cap de les sis implantacions en el FR van mostrar AEIC.

En un estudi recent en rates (Vachon i Miliareisis, 1992) també s'ha trobat AEIC en el PF, utilitzant un elèctrode mòbil, el qual podien manipular per tal de variar la profunditat d'implantació. El procediment consistia en entrenar els subjectes a respondre amb l'elèctrode localitzat en el rafe dorsal durant una setmana. Més endavant, realitzaven cinc dies de sessions d'AEIC consistint cadascuna en series d'un minut d'assaigs d'AEIC seguides d'un minut de descans. Els resultats van indicar que dos animals mostraven AEIC quan tenien l'elèctrode situat en el PF, encara que les taxes de resposta van ser moderades (25 respostes/minut). Un dels subjectes tenia l'elèctrode en el PFm, concretament en la coordenada àntero-posterior -3.80 mm posterior a bregma. L'altre subjecte el tenia en el PFl just en el marge del FR, en la coordenada -4.16 mm posterior a bregma, i molt dorsal. L'estimulació del PF en aquesta rata va anar seguida d'una tendència a caure adormida a sobre de la palanca.

En el nostre laboratori també hem explorat la possibilitat que l'estimulació del PF pugui provocar conducta d'AEIC en rates. Dels quatre subjectes que van mostrar conducta d'AEIC, dos tenien l'elèctrode situat en el PF (treball no

publicat). La localització precisa dels elèctrodes d'estimulació correspon a una zona medial del PF, situada entre les coordenades àntero-posteriors -4.16 mm i -4.30 mm posteriors a bregma, éssent en el cas del segon subjecte més dorsal que en el primer. El procediment va consistir en dues sessions de modelament de la resposta, en les que s'administraven corrents amb una intensitat de 220-250 μA en el primer subjecte i de 90-200 μA en el segon. Posteriorment, els subjectes realitzaven tres sessions de recerca de la intensitat òptima d'estimulació, en les que s'augmentava el corrent cada 10 μA , des de 110 μA fins a 320 μA . Els llindars de resposta, és a dir, la mitjana de la intensitat mínima a la que van començar a respondre, van ser de 166 μA pel primer subjecte i de 50 μA pel segon; la intensitat mitjana de corrent que va produir una major taxa de resposta va ser de 213 μA i 70 μA respectivament.

Si comparem els diferents estudis d'AEIC en el PF, observem que la profunditat és mitjana en tots els casos, excepte en un subjecte de l'experiment de Vachon i Miliaressis (1992). Quant a la lateralitat, trobem que sis subjectes tenien l'elèctrode implantat en el PFI, mentre que tres el tenien en el PFm. Finalment, les taxes de resposta no van ser massa elevades ni massa regulars.

També s'ha citat un cas d'estimulació del cervell humà. Heath (1963, citat a Clavier i Gerfen, 1982) proporcionà un exemple d'AEIC del nucli CM, que va resultar en sensacions subjectives de frustració i ràbia.

Considerant els treballs que hem esmentat advertim que existeixen diferents dades (anatòmiques, electrofisiològiques i conductuals) que suggereixen una relació entre el PF i la conducta d'AEIC. No obstant, sembla contradictori que l'estimulació reforçant del FPM disminueixi la taxa de resposta de neurones

del PF i d'altra banda que l'estimulació del propi nucli pugui causar AEIC. Per tant, es necessiten més treballs per tal de definir bé les relacions entre aquest nucli i el substrat neural del reforç, així com la part del PF implicada en l'AEIC.

2. NUCLI PARAFASCICULAR: APRENTATGE I MEMÒRIA

Les dades provinents d'estudis amb humans i animals suggereixen que hi ha estructures diencefàliques que contribueixen significativament a diversos processos cognitius i de memòria (Savage, Sweet, Castillo i Langlais, 1997). La participació del tàlem en la formació de la memòria ha estat fonamentalment relacionada amb la innervació amígdalo-talàmica i hipocàmpico-talàmica, que torna al neocòrtex a través de relleus en el nucli dorsomedial i els nuclis anteriors del tàlem (per referències, vegeu Bentivoglio *et al.*, 1991a). En canvi, el paper d'altres nuclis, com el PF, en els processos d'aprenentatge i memòria no ha estat massa estudiat, fet sorprenent si tenim en compte diferents raons que ja hem tractat en apartats anteriors i que resumim tot seguit.

Pel que fa a les connexions, el PF està situat estratègicament al bell mig del cervell i es relaciona estretament amb el sistema d'activació general i el sistema ganglis basals-talamocortical (i les funcions que aquest realitza, com el control motor, els processos sensorials o l'atenció selectiva). Així, rep informació del tronc de l'encèfal i projecta àmpliament a l'escorça cerebral i els ganglis basals (vegeu apartat 1.2.2). Quant a la neuroquímica, recordem que el PF rep importants projeccions colinèrgiques del tronc de l'encèfal. A més del possible paper en els mecanismes d'atenció i arousal, diverses evidències clíniques i anatòmiques (Dellu *et al.*, 1991) impliquen les vies colinèrgiques en moltes

conductes, especialment en els processos d'aprenentatge i memòria. En aquest sentit, s'ha vist que tant animals experimentals com voluntaris humans mostren un deteriorament d'aprenentatges nous quan se'ls hi administren agents anticolinèrgics com l'escopolamina. A més a més, sembla ser que els canvis en la memòria relacionats amb l'edat així com alguns dèficits conductuals observats en malalts d'Alzheimer poden estar relacionats amb alteracions de les vies colinèrgiques centrals. Diferents resultats indiquen que les projeccions del nucli tegmental pedunculopòntic al tàlem medial (on trobem el PF) són importants en els processos d'aprenentatge i memòria (Fujimoto *et al.*, 1990).

Finalment, els intralaminars, i el PF en particular, constitueixen una zona talàmica de convergència d'un gran nombre d'impulsos. Per tant, deduem que podrien tenir un paper important en la integració de funcions complexes. Però no únicament en les funcions emocional, motora i sensorial, sinó també podrien participar en processos amb un important component "límbic", com són els mecanismes de consolidació de la memòria. En aquest sentit, la morfologia d'algunes neurones del PF, amb dendrites llargues i poc ramificades, juntament amb la distribució dels seus axons en regions topogràficament ben definides dels ganglis basals i del còrtex cerebral, suggereixen que aquestes neurones són capaces d'integrar molts inputs i de dirigir el seu output a conjunts específics de neurones (Deschênes *et al.*, 1996). Malgrat que el PF ha estat molt relacionat amb funcions d'activació o arousal, veiem que el seu tipus de neurones i les projeccions a capes profundes de l'escorça podrien estar realitzant una funció associativa, responent a alguns inputs sinàptics que hagin estat prèviament potenciats per coincidència temporal. Les dendrites poc arboritzades i llargues que contacten amb molts inputs sinàptics podrien representar una regió ideal per aquest tipus de funció.

És per tot això que podem considerar el PF com a un bon candidat per a formar part d'un possible substrat neurofisiològic subcòrtical modulador dels processos d'aprenentatge i memòria. A part dels indicis anatòmics i funcionals esmentats també trobem treballs clínics i experimentals que recolzen aquesta hipòtesi. En els següents apartats descriurem diversos estudis, tant de lesions com d'estimulació del nucli, que relacionen el PF amb l'aprenentatge i la memòria.

2.1. ESTUDIS AMB LESIONS DEL NUCLI PARAFASCICULAR

Tal com exposarem a continuació, el paper del PF en els processos d'aprenentatge i memòria ha estat examinat estudiant sobretot els efectes de les lesions d'aquest nucli. Primer descriurem alguns estudis amb humans que tenien lesionat el complex CM-PF i que presentaven amnèsies o dèficits cognitius. Més endavant descriurem estudis amb animals, ja que la majoria d'investigacions s'ha realitzat en rates avaluant principalment els efectes de les lesions bilaterals del PF sobre respostes condicionades d'evitació (vegeu taula 2.1,1). Les tasques utilitzades amb més freqüència han estat les següents: evitació activa de dos sentits, evitació de salt (*pole-jump, jumping avoidance*) i laberints. Els resultats d'un estudi sistemàtic (Delacour, 1971) dels efectes de lesions del tàlem medial sobre l'aprenentatge van provar que, dins d'aquesta regió, el CM-PF sembla ser la zona crítica ja que la seva lesió, superior al 40%, produïa dèficits específics i bastant irreversibles. Aquests efectes semblaven dependre de l'estructura del test i del tipus de motivació, afectant particularment les respostes d'evitació activa. Degut a aquests efectes, es va proposar que el CM-PF podria realitzar un paper de control inhibitori de les respostes alternatives.

AUTORS	TIPUS LESIÓ	TASCA	PROCEDIMENT	TRACTAMENT AFEGIT	EFFECTES	
Delacour <i>et al.</i> , 1966; Delacour, 1971	Bilateral Electrolítica Pre. i Post.	EVITACIÓ ACTIVA DE DOS SENTITS	Adquisició		↓	
			Retenció		↓	
Guillazo-Blanch <i>et al.</i> , 1995	Unilateral Electrolítica Pre.		Adquisició		↓	
Ahlenius, 1980	Bilateral Radiofreq. Post.		Retenció		↓	
			Retenció	Haloperidol	↓↓	
Bohus i De Wied, 1967	Bilateral Electrolítica Pre.		Adquisició		=	
			Extinció		↑	
			Extinció	α-MSH (agut)	↑	
Delacour, 1971	Bilateral Electrolítica Post.		EVITACIÓ ACTIVA D'UN SENTIT	Retenció		=
				Inversió Adquisició		=
Cardo, 1965	Bilateral Electrolítica Pre. i Post.	Adquisició			=	
		Retenció			↓	
		Retenció		Amfetamina	=	
Roberts, 1991	Bilateral Electrolítica Pre.	Adquisició (EIC NGC)			↓	
		Adquisició (EIC NGC)		Entrenament Addicional	=	
		Extinció			=	
Delacour i Alexinsky, 1968	Bilateral Electrolítica Pre.	EVITACIÓ PASSIVA		Adquisició		=
Thompson, 1963	Bilateral Electrolítica Post.	<i>JUMPING- AVOIDANCE</i>		Retenció		=
Van Wimersma Greidanus <i>et al.</i> , 1974	Bilateral Radiofreq. Pre.	<i>POLE-JUMP AVOIDANCE</i>	Adquisició		↓	
			Extinció		↑	
			Readquisició		↓	
			Extinció	Lisina-Vasopressina	↓	
			Extinció	ACTH 4-10 (agut)	↑	

(Continua)

Thompson <i>et al.</i> , 1981	Bilateral Electrolítica Pre.	LABERINT en T (aversiu)	Adquisició		↓	
			Inversió Adquisició		↓	
			Retenció Inv. Adq		↓	
Nyakas <i>et al.</i> , 1985	Bilateral Electrolítica Pre.	LABERINT en T (aversiu)	Inversió	α-MSH i Org-2766 (agut)	↓	
			Inversió		α-MSH i Org-2766 (crònic)	=
			Inversió			
Delacour <i>et al.</i> , 1966	Bilateral Electrolítica Pre. i Post.	LABERINT SIMPLE	Adquisició		=	
			Retenció		=	
Delacour <i>et al.</i> , 1966	Bilateral Electrolítica Pre. i Post.	LABERINT COMPLEX		Adquisició	↓	
				Retenció	↓	
			Entrenament Adicional	Retenció	=	
Delacour i Santacana de Martínez, 1967	Bilateral Electrolítica Pre.	CONDIC. CLÀSSIC Taxa cardíaca (aversiu)		Adquisició	=	
Cardo, 1965	Bilateral Electrolítica Pre.	CONDIC. OPERANT (apetitiu)	Adquisició		=	
			Retenció		=	
			Extinció		=	
M'Harzi <i>et al.</i> , 1991	Bilateral Electrolítica Pre.	LABERINT RADIAL (apetitiu)	Adquisició		↓	
	Bilateral Ibotènica Pre.				=	
	Bilateral Electrolítica Pre.	RECONeix. OBJECTES i LLOCS	Adquisició		=	
	Bilateral Ibotènica Pre.				=	
Thompson <i>et al.</i> , 1990b	Bilateral Electrolítica Pre.	RESOLUCIÓ PROBLEMES -Puzzle Box- (apetitiu)	Adquisició		↓	

(Continua)

Savage <i>et al.</i> , 1997	Bilateral Radiofreq. Pre. i Post.	APARELL. DEMORAT amb la MOSTRA (laberint en T)	Readquisició	=
			Retenció (latència curta)	=
			Retenció (latència llarga)	↓
		LABERINT de MORRIS	Adquisició	=

Taula 2.1.1. Efectes de les lesions del nucli parafascicular de la rata sobre diferents situacions d'aprenentatges aversius (evitació activa de dos sentits, evitació activa d'un sentit, evitació passiva, evitació de salt, laberints, condicionament clàssic) i apetiutius (gàbia de Skinner, laberints). (EIC NGC: estimulació elèctrica intracranial del nucli gigantocel·lular; Post.: postentrenament; Pre.: preentrenament; Radiofreq.: radiofreqüència; †: efecte facilitador; ↓: efecte deteriorant; =: no efecte).

2.1.1. Estudis Clínics

Existeixen diverses dades clíniques que ens indiquen que la lesió del diencèfal medial pot produir amnèsia anterògrada severa i persistent, l'anomenada amnèsia diencefàlica o talàmica. Amb aquest tipus de lesions s'observen principalment dèficits en la memòria verbal, sense afectar l'intel·lecte general (Parkin *et al.*, 1994). S'han realitzat lesions àmplies del tàlem medial per tal d'alleujar el dolor crònic, observant-se en molts casos pèrdues de memòria i trastorns de la parla, entre d'altres dèficits neurològics (Young *et al.*, 1995). Les lesions talàmiques discretes, com per exemple del CM-PF, també poden produir amnèsia talàmica en humans amb el mateix patró de dèficits (Mori *et al.*, 1986).

D'altra banda, en patologia humana, les estructures intralaminars poden participar en dues altres síndromes talàmiques diferents. La primera està representada per la *negligència talàmica*, que pot ser observada després de lesions unilaterals del tàlem medial que inclouen el CM-PF. Aquesta síndrome consisteix en una negligència unilateral dels estímuls que s'originen en la meitat oposada de l'espai corporal i extracorporal (Watson *et al.*, 1981). Un infart bilateral de la mateixa regió provoca mutisme, apatia, pèrdua de motivació i amnèsia, síndrome similar a alguns símptomes negatius de l'esquizofrènia (Macchi i Bentivoglio, 1986; Watson *et al.*, 1981). Les observacions experimentals en rates i primats després de lesions bilaterals del PF són semblants a les descrites en la síndrome talàmica observada en la patologia humana (Delacour, 1971; Watson *et al.*, 1978). La segona síndrome patològica principal amb participació dels nuclis intralaminars està representada per la *negligència motora unilateral*, que es caracteritza per manca d'espontaneïtat i de reactivitat motora. Aquesta "indiferència motora" es relaciona amb un defecte en el sistema d'activació, important per a un aprenentatge òptim, en el que es troben implicats els intralaminars i es pot observar després de lesions dels mateixos, inclosos el CM-PF (Macchi i Bentivoglio, 1986).

Finalment, el PF també s'ha relacionat amb algunes malalties neurodegeneratives que presenten dèficits cognitius o alteracions de la memòria. Pacients amb la malaltia de Huntington, la qual s'associa amb amnèsia o demència, mostren en el CM-PF una pèrdua neuronal i glial així com una alta densitat d'astròcits reactius, a més d'atròfia en l'estriat (Heinsen *et al.*, 1996). La pèrdua neuronal en el CM-PF també ha estat descrita en altres trastorns com la malaltia d'Alzheimer i la malaltia de Creutzfeld-Jakob (vegeu Heinsen *et al.*, 1996).

2.1.2. Estudis amb Animals

2.1.2.1. Evitació Activa de Dos Sentits

En una sèrie d'experiments en els que es van avaluar els efectes de les lesions electrolítiques bilaterals del CM-PF en rates, els resultats van mostrar que les lesions disminueixen la freqüència de les respostes d'evitació, tant en animals lesionats pre-entrenament com en animals lesionats post-entrenament i avaluats després de la lesió (Delacour, 1971; Delacour *et al.*, 1966). Aquests efectes eren poc reversibles i persistien durant més de 200 assaigs. Segons l'extensió de la lesió s'observà una supressió completa de la resposta o un alentiment de l'aprenentatge. Malgrat l'alta significació estadística obtinguda, les diferències individuals van ser molt grans.

En el nostre laboratori també hem avaluat els efectes de la lesió del PF sobre l'evitació activa de dos sentits (Guillazo-Blanch *et al.*, 1995). Els resultats van mostrar que la lesió electrolítica unilateral del PF, prèvia a les sessions d'aprenentatge, disminuïa significativament l'adquisició d'aquest condicionament, distribuït en cinc dies d'entrenament. En aquest estudi vam observar també que l'estimulació elèctrica intracranial del PF, administrada durant tres sessions abans de l'entrenament, produïa efectes significativament negatius sobre la tasca. Aquests efectes perjudicials van ser atribuïts a la lesió del teixit, causada per l'alta intensitat de l'estimulació.

Altres tipus de treballs han utilitzat els efectes de les lesions del PF sobre l'aprenentatge com a model per a mesurar diferents tractaments farmacològics o tractaments útils per a la plasticitat neural post-lesió. Així, s'ha observat que molts fàrmacs antipsicòtics, els quals bloquegen la neurotransmissió

dopaminèrgica, provoquen un deteriorament en l'evitació activa de dos sentits i que les lesions dels intralaminars són també efectives per alterar l'execució d'aquesta tasca (Ahlenius, 1980). Aquest autor va investigar una possible connexió funcional entre el PF i la DA cerebral en la mediació del condicionament d'evitació activa de dos sentits, en rates. Per això va aplicar dosis sub-llindar de drogues que bloquegen els receptors de DA (haloperidol) i altres que afecten els de NA, totes dues combinades amb lesions bilaterals del PF per radiofreqüència. Els resultats van mostrar que les lesions tenien un efecte petit en l'execució de la resposta adquirida pre-lesió. Val a dir, però, que no totes les lesions van ser bilaterals i algunes van ser petites. No obstant, els animals lesionats tractats amb l'antagonista dopaminèrgic van mostrar una supressió de la resposta d'evitació més gran que l'esperable per la simple administració de la droga. A més a més, es va trobar una correlació significativa entre el tamany de la lesió del PF i la supressió de l'evitació induïda per l'haloperidol. Per tant, sembla existir una interacció entre el bloqueig dels receptors de DA i la pèrdua de neurones del PF. En aquest experiment, les lesions localitzades més rostralment en el PF van ser més efectives que les més caudals quant a la interacció amb l'haloperidol.

Pel que fa a la taxa d'extinció de l'evitació activa de dos sentits, es va observar que les lesions electrolítiques bilaterals del PF la facilitaven, quan la resposta havia estat apresada en 14 sessions de 10 assaigs cadascuna, mentre que la seva adquisició no va ser afectada (Bohus i De Wied, 1967). A part, es coneix que el tractament amb alguns pèptids, com l'ACTH, pot ser beneficiós per a l'anomenada plasticitat neural postlesió. En aquest sentit, es va demostrar que l'administració dels pèptids Lisina-Vasopressina o α -MSH (α -melanocitoestimulant, anàleg de l'ACTH) per via sistèmica o intracerebral pot retardar o inhibir la taxa d'extinció de la resposta (Van Wimersma Greidanus,

Bohus i De Wied, 1975) i facilitar els processos de consolidació i recuperació (De Wied, 1997). En el treball de Bohus i De Wied (1967) també es va aplicar α -MSH subcutàniament dia sí dia no dues hores abans de les sessions diàries d'extinció a rates amb lesions del PF. Es va observar que es produïa una extinció ràpida de la resposta, és a dir, les lesions del PF bloquejaven els efectes del pèptid. Aquests resultats suggereixen que el PF és necessari per als efectes de l' α -MSH sobre les respostes d'evitació.

Finalment, els resultats dels estudis realitzats amb altres espècies com els gats o els primats contrasten amb els que acabem d'exposar en rates, ja que les lesions del CM-PF no semblen afectar l'execució de l'evitació activa d'aquests animals (Kaelber *et al.*, 1975).

2.1.2.2. Evitació Activa d'Un Sentit i Evitació Passiva

Delacour (1971) va observar que les lesions electrolítiques bilaterals del CM-PF no afectaven el retest postlesió ni la inversió de l'entrenament inicial en evitació activa d'un sentit (creuar del compartiment B a l'A) en rates. Cardo (1965) va trobar uns efectes contradictoris als anteriors ja que va observar que les lesions electrolítiques bilaterals sí que abolien la readquisició d'aquesta resposta, la qual havia estat apresada prelesió. No obstant, l'amfetamina (dosis d'1 i 2 mg/kg) va restablir immediata i provisionalment la resposta; aquesta millora va ser passatgera i no va excedir la durada de l'acció de la droga. Aquestes diferències podrien ser degudes al tamany de la lesió o al moment concret en què es produïa. D'altra banda, i ja més d'acord amb la majoria d'estudis, les lesions bilaterals del PF no afectaven l'adquisició d'un condicionament normal de la resposta d'evitació activa d'un sentit (Cardo, 1965). El PF no sembla indispensable, doncs, per establir i conservar connexions temporals de

l'aprenentatge d'aquesta tasca perquè l'administració d'amfetamina fa reaparèixer el condicionament que havia estat abolit per les lesions del nucli.

Els resultats d'un estudi més recent (Roberts, 1991) mostren que les respostes conductuals relacionades amb l'estimulació del nucli gigantocel·lular (fugida i evitació en la gàbia d'evitació activa d'un sentit) poden ser disminuïdes per lesions electrolítiques bilaterals del PF, per bé que les respostes afectives (defecació, xiscles, etc.) no van canviar en les rates lesionades. Aquests resultats semblen estar renyits amb els anteriors que indicaven respostes intactes després de la lesió del CM-PF; no obstant, aquesta diferència es podria explicar en base al tamany de la lesió del nucli. En l'experiment de Roberts (1991) la lesió va ser més gran que en els que no troben efectes de la lesió. Malgrat això, un entrenament addicional postlesió de la tasca d'evitació activa d'un sentit va resultar en una readquisició de les respostes d'evitació en 6 dels 9 animals lesionats. Un cop va ser restablert el comportament d'evitació en resposta a l'estimulació del nucli gigantocel·lular, la taxa d'extinció dels animals lesionats no va diferir de la dels controls, al contrari que el que troben Bohus i De Wied (1967) amb l'evitació activa de dos sentits. Per tant, els dèficits en l'evitació van ser només temporals i això pot explicar les discrepàncies entre diferents estudis.

Finalment, respecte l'adquisició de l'evitació passiva, no sembla ser impedida per les lesions del complex CM-PF en la rata (Delacour i Alexinsky, 1968; Savage *et al.*, 1997).

Veiem, doncs, que la lesió del CM-PF produeix efectes diferents sobre l'evitació activa d'un sentit (i la passiva) i la de dos sentits. Probablement aquesta és més difícil que les altres dues ja que, sota les mateixes condicions, per tal d'assolir un nivell equivalent d'execució es requereixen uns 100-120 assaigs en

l'evitació de dos sentits, mentre que només uns 30 assaigs en la d'un sentit (Delacour, 1971). L'especial dificultat de la tasca d'evitació de dos sentits pot ser deguda al conflicte experimentat pels animals ja que no hi ha cap compartiment segur. Per tant, cada tasca podria dependre de factors diferents, els quals podrien ser afectats diferencialment per la lesió del CM-PF.

2.1.2.3. Altres Tipus d'Aprenentatges Aversius

Thompson (1963) va dissenyar un estudi per a determinar quin dels nuclis talàmics era crític en el manteniment d'una resposta d'evitació. Va realitzar lesions electrolítiques bilaterals de diversos nuclis del tàlem després d'entrenar els subjectes a una resposta de salt davant d'un estímul discriminatiu (*jumping-avoidance*). La resposta que havia d'executar la rata consistia en saltar i agafar-se amb les potes del davant al final de les parets de la gàbia (hi havia un espai d'un centímetre aproximadament entre la tapa i el final de les parets de la gàbia). Els resultats van mostrar que les lesions de nuclis anomenats aleshores "difusos", com el PF, i del dorsomedial van dificultar significativament l'execució postlesió de les respostes condicionades a estímuls visuals i auditius. Aquestes lesions no van interferir en l'execució de respostes incondicionades, ni en els components espontanis o emocionals del procés de condicionament. Totes aquestes mesures, juntament amb les respostes condicionades, van mostrar una considerable variabilitat entre subjectes, sense correlacionar amb el tamany o localització de la lesió, velocitat d'adquisició del condicionament prelesió, edat o període de recuperació.

Estudiant una tasca similar a l'anterior, doncs les rates també havien de saltar (*pole-jump avoidance*), es va trobar que les lesions bilaterals del PF per radiofreqüència produïen dificultats en l'adquisició d'aquesta resposta d'evitació

de salt, una extinció més ràpida i dificultats en la readquisició després de l'extinció (Van Wimersma Greidanus *et al.*, 1974). Aquests autors havien constatat paral·lelament que l'aplicació de Lisina-Vasopressina o d'anàlegs de l'ACTH, com l' α -MSH i l'ACTH 4-10, administrats a animals controls per via subcutània durant diverses sessions d'extinció, era eficaç per a retardar l'extinció de la mateixa resposta. Combinant aquests tractaments amb lesions del PF, van observar que en animals lesionats l'aplicació de Lisina-Vasopressina induïa una preservació dosi-dependent de l'evitació de salt, mentre que l'aplicació de ACTH 4-10 una hora abans de les sessions no preservava la resposta. Per tant, si bé el PF és sensible als efectes de la vasopressina, no és essencial ja que els animals lesionats al PF només precisen una dosi més alta per a preservar la resposta d'evitació; en canvi, el PF sembla ser essencial per als efectes conductuals del pèptid ACTH, en concordància amb els efectes trobats en una altra tasca d'evitació: l'evitació activa de dos sentits (Bohus i De Wied, 1967). S'havia suggerit que els anàlegs de l'ACTH podrien afectar l'arousal de certes estructures cerebrals, causant alteracions en la sensibilitat als estímuls ambientals. És possible que l'ACTH indueixi aquest estat d'arousal afectant el PF, el qual podria canviar la influència motivacional dels estímuls.

Thompson, Kao i Yang (1981) van estudiar rates amb lesions electrolítiques bilaterals en diferents regions cerebrals, les quals van ser entrenades en problemes d'inversió de l'aprenentatge en un laberint en T (*T-maze reversal learning*) amb un xoc elèctric com a reforçador negatiu. Van demostrar que la lesió del PF reduïa l'aprenentatge "original", l'aprenentatge invertit i la retenció de l'aprenentatge invertit. De totes maneres, el grup lesionat en el PF va realitzar una considerable millora en l'aprenentatge invertit al llarg de l'experiment, si bé sempre va realitzar més errors que el grup control; en els assaigs de retenció, però, no es va observar cap millora. Aquests dèficits van ser

interpretats com un trastorn de la memòria espacial. Abans, McGaugh i Hertz (1972; citat a Thompson *et al.*, 1981) ja havien indicat que el tàlem posteromedial era una de les regions del cervell que contribuïa directa o indirectament a la consolidació de la memòria espacial. Podem pensar, doncs, que l'hipocamp i el PF pertanyen a diferents sistemes neurològics, ambdós participants en l'execució de problemes d'inversió espacial i que podrien participar en el procés de la consolidació.

Així mateix, Nyakas, Veldhuis i De Wied (1995) van observar que la lesió electrolítica bilateral del PF provocava un major nombre d'errors en una tasca idèntica a l'anterior. Els dèficits en la inversió de l'aprenentatge, observats com a conseqüència de les lesions, podien ser recuperats mitjançant l'administració subcutània crònica d' α -MSH i Org-2766 (ambdós anàlegs de l'ACTH). Degut a que l'administració aguda dels pèptids no va millorar l'execució dels animals lesionats, els efectes positius dels tractaments no es poden explicar en base a un efecte a curt termini en la motivació o l'atenció (com diuen Bohus i de Wied). Els autors suggereixen una acceleració en la recuperació de les funcions cognitives afectades com a resultat de les influències neurotròpiques a llarg termini, si bé el mecanisme específic es desconeix. Cal afegir que en aquest estudi també es van analitzar els efectes de la lesió del PF sobre el llindar de percepció del dolor no observant-se diferències entre els animals lesionats, els lesionats tractats amb pèptids i els controls.

2.1.2.4. Condicionament Clàssic

Un altre tipus de tasca com és l'adquisició d'una reacció vegetativa defensiva (canvi en la taxa cardíaca) en una situació de condicionament-clàssic no va quedar afectada per lesions en el CM-PF (Delacour i Santacana de

Martínez, 1967; citat a Delacour, 1971). Aquest resultat negatiu és coherent amb les observacions realitzades en experiments amb gàbia d'evitació de dos sentits. En aquesta situació, l'estímul condicionat elicitava freqüentment respostes vegetatives com defecacions o canvis respiratoris, així com respostes posturals anticipatòries, que en molts casos no són seguides per la resposta instrumental en les rates lesionades. Això significa que les lesions d'aquest complex no impedeixen que l'estímul condicionat adquireixi propietats de senyal, és a dir, les rates lesionades estan encara subjectes a lleis de contigüitat. Un altre tipus de treballs va mostrar que durant l'adquisició d'un condicionament clàssic de la taxa cardíaca es produïen canvis en les neurones del CM en conills (Powell, Watson i Buchanan, 1990). Aquests dos experiments ens indiquen que en el CM s'esdevenen canvis associatius quan els animals són exposats a contingències de condicionament clàssic, però que les lesions d'aquest nucli no aboleixen el condicionament.

2.1.2.5. Aprenentatges Apetitius

Els estudis dels efectes de les lesions del PF sobre aprenentatges apetitius són més escassos. En general, les lesions bilaterals del complex CM-PF no tenen efecte sobre diferents tasques reforçades amb menjar, com l'adquisició, retenció i extinció de la resposta de prémer la palanca en gàbies de Skinner (Cardo, 1965) o l'adquisició i retenció de laberints simples (Delacour *et al.*, 1966). L'adquisició i retenció de laberints complexos van ser deteriorades significativament però l'efecte va ser transitori, éssent revertit després de 4-6 sessions de 20-30 assaigs (Delacour *et al.*, 1966).

Continuant amb els laberints complexos, M'Harzi, Jarrard, Willig, Palacios i Delacour (1991) van realitzar un treball en el que s'analitzaven els

efectes de les lesions electrolítiques bilaterals de la fimbria de l'hipocamp i de nuclis talàmics (CM-PF i dorsomedial) sobre tasques que avaluaven la memòria de treball. Aquestes tasques eren el laberint radial de 8 braços (reforçats amb aigua) i el reconeixement d'objectes i llocs. Els resultats van mostrar que les lesions electrolítiques del CM-PF (i del dorsomedial i l'hipocamp) produïen decrements significatius en l'adquisició de l'aprenentatge del laberint radial, però les lesions amb àcid ibotènic no afectaven les mesures de memòria. Els autors van suggerir que el FR, lesionat amb les lesions electrolítiques però conservat amb l'àcid ibotènic, podria ser el responsable dels dèficits observats i que s'hauria de reorientar l'anatomopatologia de l'amnèsia diencefàlica cap els tractes. Aquesta idea sembla coherent ja que el FR és una de les principals vies colinèrgiques del cervell i constitueix un enllaç important entre estructures límbiques i el tronc de l'encèfal.

El grup de Thompson ha realitzat estudis sobre els efectes de la lesió de diferents nuclis del cervell de la rata sobre una gran varietat de tasques de resolució de problemes reforçades amb aigua. Aquests estudis demostren que la lesió electrolítica bilateral del PF produeix efectes deteriorants sobre un tipus concret de tasques: aquelles que comporten algun tipus de discriminació vestibular-propioceptiva-cinestèsica, com per exemple l'aprenentatge d'habilitats motores (*puzzle-box training*) (Thompson *et al.*, 1990b).

En relació amb aprenentatges espacials, molt recentment s'ha observat que les lesions bilaterals per radiofreqüència del PF en la rata no van tenir efecte en la retenció amb poca demora i la readquisició de la tasca d'aparellament demorat amb la mostra, però van provocar dèficits en la retenció quan les demores eren llargues (60 o 90 segons). Aquesta tasca s'utilitza generalment per avaluar la memòria de treball espacial en rosegadors. En aquest cas el reforçador emprat

era menjar i es realitzava en un laberint en T (Savage *et al.*, 1997). D'altra part, els mateixos investigadors van analitzar els efectes de la lesió del PF sobre l'adquisició de la tasca del laberint de Morris, observant que la lesió no afectava l'execució d'aquest aprenentatge relacional (Savage *et al.*, 1997).

Malgrat que les lesions del PF no semblen afectar, en general, els aprenentatges apetitius, podem pensar que els efectes d'aquestes lesions depenen de diferències en l'estructura dels tests més que del tipus de motivació. Per tractar d'esbrinar això, Delacour (1970) dissenyà dos parells d'experiments realitzats amb condicions generals i procediment idèntics, en els que la resposta condicionada era sempre prémer una palanca; per tant, l'estructura de les proves era sempre igual (vegeu taula 2.1,2). En cada parell, un experiment era amb motivació aversiva i l'altre amb motivació apetitiva. En el primer parell va utilitzar un condicionament a paràmetres temporals (tipus Sidman), mentre que en el segon parell un condicionament amb un estímul discriminatiu visual després del qual apareixia un xoc elèctric o menjar. Els resultats van mostrar que només les dues respostes defensives (l'evitació Sidman i la discriminada) van ser afectades, negativament, per la lesió bilateral del CM-PF, el que indica que els efectes de les lesions del PF semblen dependre del tipus de motivació.

	MOTIVACIÓ AVERSIVA (xoc)	MOTIVACIÓ APETITIVA (menjar)
Condicionament SIDMAN	↓	=
Condicionament DISCRIMINATIU	↓	=

Taula 2.1,2. Resum del efectes de les lesions bilaterals del complex CM-PF de la rata sobre aprenentatges reforçats negativa i positivament. (↓: efecte deteriorant; =: no efecte).

2.1.3. Consideracions i Conclusions dels Efectes de les Lesions del Parafascicular

Com a conclusió dels estudis sobre els efectes de lesions del CM-PF, podem dir que el paper d'aquest complex en els processos d'aprenentatge i memòria sembla estar bastant clar quan tractem tasques d'evitació. Així, les lesions d'aquesta regió deterioren diferents respostes condicionades aversivament com les adquirides en la gàbia d'evitació activa de dos sentits, en gàbies d'evitació de salt, en laberints en T, en una situació d'evitació discriminativa en què la resposta consisteix en prémer una palanca o en paradigmes Sidman. No obstant, trobem algunes diferències entre estudis amb motivació aversiva, que es podrien deure a:

- a) Diferències en el tamany de les lesions. Per exemple, les que van realitzar Bohus i De Wied (1967) són més petites que les obtingudes en els treballs de Delacour (Delacour, 1971; Delacour *et al.*, 1966).
- b) Diferències en la localització de les lesions. En alguns estudis es va afectar principalment el PF (Guillazo *et al.*, 1995), mentre que en d'altres van quedar més laterals.
- c) Diferències en les característiques de la tasca. Per exemple, la resposta d'evitació activa de dos sentits sembla estar controlada per factors diferents que la resposta d'evitació activa d'un sentit.

D'altra banda, es podria pensar que degut a que el PF està relacionat amb el sistema del dolor (vegeu apartat 1.5.3.), les lesions podrien haver alterat el llindar de dolor o les respostes de fugida. No sembla ser així perquè s'ha vist que

les lesions del PF no augmenten el llindar de dolor i que les rates lesionades realitzen respostes de fugida similars a les no lesionades (Albe-Fessard i Delacour, 1968; citat a Delacour, 1970). Així mateix, els dèficits en les respostes d'evitació activa de dos sentits no es deuen a una disminució en la motivació aversiva ja que la por condicionada no sembla disminuir amb les lesions. Aquestes no impedeixen l'adquisició d'una resposta defensiva vegetativa com és el canvi en el ritme cardíac en una situació de condicionament clàssic, ni tampoc impedeixen l'evitació passiva. A més a més, en els experiments aversius s'observen manifestacions conductuals de motivació o de por condicionada (p.ex. xiscles) en els animals experimentals i en els controls. Finalment, la disminució en l'execució de les respostes d'evitació podria atribuir-se al fet que les lesions del PF produeixen un decrement de les capacitats motores. No sembla ser el cas ja que en les respostes condicionades que no comporten locomoció, com prémer la palanca, també s'observen dèficits després de les lesions.

Així doncs, el CM-PF podria tenir un paper bastant específic en els mecanismes de les respostes instrumentals defensives, encara que no completament específic ja que les lesions del complex van produir dèficits significatius (si bé reversibles o imputats a la lesió del FR) en l'adquisició i retenció de tasques complexes reforçades positivament, així com en tasques de resolució de problemes i en l'aparellament demorat amb la mostra. No obstant, l'efecte de les lesions pot dependre de la complexitat de la tasca quan el factor motivació és constant, tal com suggereixen els experiments amb laberints (complexos vs. simples) i la comparació entre dues tasques d'evitació (dos sentits-un sentit). Podem suposar que el paper del CM-PF podria estar relacionat amb el control inhibitori o la selecció de respostes, tal com afirma Delacour (1971); aleshores la seva lesió afectaria les tasques complexes o aquelles en què la resposta condicionada presentés menys probabilitats d'aparèixer o competís amb

altres respostes interferents (per exemple, en situacions de conflicte com l'evitació activa de dos sentits).

2.2. ESTUDIS AMB ESTIMULACIÓ ELÈCTRICA DEL NUCLI PARAFASCICULAR

Existeixen alguns treballs en els que s'ha aplicat estimulació elèctrica del PF, però els seus objectius són ben diferents als nostres ja que són estudis de tipus electrofisiològic destinats a localitzar connexions del nucli (p.ex. Féger i Mouroux, 1991), estudis relacionats amb el sistema del dolor (vegeu apartat 1.5.3.) o estudis que avaluen l'activitat locomotora després d'estimular el PF (Mileikovsky *et al.*, 1994). Més relacionat amb l'aprenentatge, existeix un estudi en el que l'estimulació del PF semblava facilitar la transmissió de la via perforant a la circumvolució dentada de la formació hipocampal (Dahl i Winson, 1986) durant el SOL i la vigília. En aquesta via s'indueix amb facilitat la potenciació a llarg termini, la qual podria constituir un model sinàptic d'aprenentatge.

Estudiant la bibliografia trobem pocs i antics treballs anteriors als nostres que estudiïn els efectes de l'estimulació del PF sobre els processos d'aprenentatge i memòria. Cardo (1967) va realitzar una revisió i va advertir que, en general, l'estimulació d'aquest nucli semblava tenir els mateixos efectes que la lesió, és a dir, produïa deteriorament de les respostes d'evitació. Concretament:

- a) L'estimulació dels intralaminars feia que les rates es quedessin aturades en una situació d'evitació activa d'un sentit.
- b) L'estimulació del PF provocava que els primats mostressin activació o son en una situació d'evitació segons el moment d'estimulació.

c) L'estimulació a baixes freqüències (8 Hz) del PF en gats induïa inhibició d'un moviment voluntari simple.

d) L'estimulació a baixes freqüències (7.5 Hz) del CM en primats no influïa sobre un condicionament d'evitació.

Un dels treballs menys antics va ser realitzat per Wilburn i Kesner el 1972 en gats. Es pretenia estudiar els efectes diferencials de l'estimulació del caudat i dels nuclis talàmics "inespecífics" sobre l'aprenentatge i la memòria. Els animals, prèviament privats de menjar, van ser entrenats durant 5 dies (10 assaigs per dia) en un aprenentatge d'evitació passiva que consistia en una associació entre el plat de menjar, que es trobava en un compartiment de la gàbia, i un xoc elèctric administrat a la boca mentre menjaven. Després de cada assaig (4 segons o 5 minuts després del xoc en la boca), s'aplicava bilateralment estimulació elèctrica intracranial que, en el cas dels nuclis del tàlem, consistia en un tren de 5 segons compost de pulsos bifàsics simètrics de 0.3 milisegons de durada cadascun; la intensitat i la freqüència eren baixes (0.5 mA i 7 Hz). El principal resultat va ser que l'estimulació talàmica produïa amnèsia de l'experiència aversiva, mentre que la del caudat no. No obstant, ens resulta difícil d'extreure conclusions definitives ja que només hi havia 4 subjectes amb l'elèctrode implantat bilateralment en el CM-PF.

Cardo (1967) va realitzar un treball en rates, on s'analitzaven els efectes de l'estimulació elèctrica del PF sobre l'evitació activa d'un sentit, trobant efectes contraris als exposats fins el moment. Quan els animals estaven adormits es realitzava el càlcul de l'estimulació òptima que consistia en esbrinar quina era la intensitat mínima per desvetllar els subjectes. L'estimulació era unilateral i consistia en ones d'estimulació rectangulars monofàsiques de 0.5 msec. de durada

i una freqüència de 100 Hz. Després de la determinació dels llimars, les sessions de condicionament van ser realitzades de la manera següent: cada animal era entrenat durant 14 dies amb 20 assaigs per dia i l'estimulació intracranial era aplicada immediatament abans de cada assaig d'evitació un dia sí un dia no. Els resultats van mostrar que els dies en què s'estimulava el PF els animals augmentaven el nombre d'evitacions en un 15%. Observant les localitzacions dels elèctrodes veiem que 5 animals el tenien al PFm i 5 al PFI, dels quals 3 afectaven el FR.

Així mateix, en el nostre laboratori també hem estudiat els efectes de l'estimulació del PF en rates, però en aquest cas sobre l'evitació activa de dos sentits (Guillazo-Blanch *et al.*, 1995). El procediment consistia en 3 sessions de 20 minuts cadascuna, prèvies a les sessions d'aprenentatge, de recerca de la intensitat òptima. En aquestes sessions es començava amb l'aplicació de baixes intensitats de current (20 μ A) que van ser progressivament incrementades. Els paràmetres de l'estimulació consistien en trens de pulsos quadrats amb una freqüència de trens d'1 Hz i 200 msec. de durada; cada tren estava format per 10 pulsos de 10 msec. de durada. Dos dies després d'aquestes sessions, els animals realitzaven un entrenament del condicionament, distribuït en 5 sessions d'adquisició (1 diària) de 10 assaigs cadascuna. Immediatament després de cada sessió d'entrenament, els subjectes experimentals van ser estimulats al PF durant 5 o 10 minuts amb el corrent d'intensitat òptim detectat en les sessions prèvies; el valor mitjà va ser de 258 μ A en el grup d'estimulació de 10 minuts i de 380 μ A en el de 5 minuts. Tal com hem exposat en l'apartat anterior, el pretractament amb estimulació va produir dèficits en l'adquisició subseqüent de la tasca, però l'estimulació postentrenament (de 5 i 10 minuts) va revertir aquells efectes negatius igualant l'execució a la de les rates control.

En la taula 2.2,1 presentem un resum dels tres darrers experiments, els quals van avaluar els efectes de l'estimulació del PF sobre tres tasques diferents d'aprenentatge.

AUTORS	ESPÈCIE ANIMAL	ESTIMULACIÓ	TRACTAMENT	APLICACIÓ TRACTAMENT	TASCA	PROCEDIMENT	EFFECTES
Wilburn i Kesner, 1972	gat	Bilateral CM-PF	1. pulsos simètrics bifàsics 2. 1 tren de 5 sgs, pulsos de 0.3 mgs 3. 0.5 mA 4. 7 Hz	1. 4 sgs o 5 min postassaig 2. durant 5 sgs	EVITACIÓ PASSIVA 5 sessions 10 assaigs/sessió	Adquisició	↑
Cardo, 1967	rata	Unilateral PF	1. ones rectangulars monofàsiques 2. 0.5 mgs/ona 3. lllindar arousal (mitjana:3.38V) 4. 100 Hz	1. preassaig, dia si dia no 2. de de 3 sgs abans de l'EI fins la RC o final EI	EVITACIÓ ACTIVA D'UN SENTIT 14 sessions 20 assaigs/sessió	Adquisició	↑
Guillazo-Blanch et al., 1995	rata	Unilateral PF	1. pulsos quadrats monofàsics 2. trens amb 10 pulsos de 10 mgs 3. mitjana:319µA 4. 1 Hz	1. sessions prèvies a l'entrenament 2. durant 20 min aprox. ----- 1. postsessió immediatament 2. durant 5 o 10 min	EVITACIÓ ACTIVA DE DOS SENTITS 5 sessions 10 assaigs/sessió	Adquisició ----- Adquisició	↑ ----- =

Taula 2.2,1. Efectes de l'estimulació del nucli parafascicular de la rata sobre tres tasques d'evitació (evitació passiva, evitació activa d'un sentit i evitació activa de dos sentits). (Tractament: 1.: Tipus, 2.: Durada, 3.: Intensitat, 4.: Freqüència; Aplicació Tractament: 1.: Moment, 2.: Durada; ↑: efecte facilitador; Efectes: ↓: efecte deteriorant; =: no efecte).

2.3. CONCLUSIONS FINALS SOBRE LA RELACIÓ ENTRE EL PARAFASCICULAR I L'APRENTATGE I LA MEMÒRIA

Com a principals conclusions de l'apartat que relaciona el PF amb l'aprenentatge i la memòria podem destacar:

1. La situació en el cervell, les connexions i les característiques de les neurones del PF el presenten com a un bon candidat per a participar en processos de modulació de l'aprenentatge i la memòria. Per exemple, el PF es relaciona amb l'hipocamp i el neoestriat, els quals semblen tenir un paper destacat en la consolidació de la memòria.
2. La literatura clínica suggereix que les lesions del CM-PF poden produir amnèsia, entre d'altres símptomes. Aquest complex també es relaciona amb malalties neurològiques o psiquiàtriques que presenten alteracions cognitives i de la memòria.
3. La integritat del tàlem medial (que inclou el PF) és necessària per a l'expressió normal d'una gran varietat de tasques en la rata.
4. Les lesions específiques del CM-PF impedeixen diferents aprenentatges, sobretot els aversius, com l'evitació activa de dos sentits i l'evitació de salt, i alguns aprenentatges complexos, com la resolució de problemes que impliquen discriminació vestibular-propioceptiva-cinestèsica.
5. Pel contrari, el PF no sembla indispensable per a establir l'aprenentatge d'evitació activa d'un sentit perquè l'administració d'amfetamina o un entrenament addicional postlesió fan reparèixer el condicionament abans

abolit per les lesions del nucli. Tampoc ho és per a diversos aprenentatges apetitius ja que el possible efecte negatiu de les lesions és revertit amb sessions addicionals de condicionament.

6. La lesió del PF causa dèficits espacials sensibles a la demora, utilitzant un procediment d'aparellament demorat amb la mostra, en un laberint en T. En canvi, la lesió del nucli no sembla afectar l'execució en el laberint de Morris.

7. El PF sembla ser el lloc on actuen alguns pèptids (anàlegs de l'ACTH) per tal de facilitar la consolidació de la memòria, doncs l'aplicació d'aquests pèptids en animals amb lesió del PF no produeix els seus efectes beneficiosos.

8. Els efectes de l'estimulació del PF no són clars: podria causar amnèsia en diferents espècies o facilitació en rates. Aquests efectes poden dependre del moment d'aplicació del tractament o del tipus de tasca i procediment d'aprenentatge.

III. PART EXPERIMENTAL

1. INTRODUCCIÓ ALS TREBALLS PRESENTATS: OBJECTIUS I JUSTIFICACIÓ DELS PROCEDIMENTS

Després d'haver revisat la bibliografia, observem que encara resten per esbrinar moltes qüestions importants en relació a l'estudi de les funcions dels nuclis intralaminars del tàlem. Per exemple, si la seva participació és imprescindible per a la consciència i/o l'activació del cervell, així com per a processos relacionats amb aquestes funcions com són l'aprenentatge i la memòria. Quant al PF, aquest nucli sembla participar en l'adquisició i consolidació de diferents tipus de tasques (vegeu apartat 2 de la secció II), però tenim referència de pocs treballs que hagin utilitzat el procediment de l'estimulació elèctrica d'aquest nucli per a estudiar la seva funció en relació als processos esmentats (vegeu apartat 2.2). En el nostre laboratori hem estudiat els efectes de l'estimulació elèctrica i la lesió del PF sobre l'adquisició i consolidació de l'evitació activa de dos sentits (Guillazo-Blanch *et al.*, 1995). Vam posar de manifest que, almenys en aquest tipus de tasca, el PF podria tenir una funció moduladora de l'aprenentatge i la memòria.

En aquest context, hem cregut oportuna la realització dels experiments que exposarem a continuació per tal de continuar i aprofundir en l'estudi de les funcions dels intralaminars, i especialment del PF. Els treballs que presentem pretenen avaluar la possibilitat que el PF pugui participar en un sistema subcortical modulador dels processos d'aprenentatge i memòria. Els mecanismes i estructures neurals crítiques per a la modulació d'aquests processos podrien ser comuns, tal com ja s'ha explicat en la secció I, a diferents procediments de facilitació, ja siguin naturals, com el son paradoxal, o artificials, com l'AEIC.

En concret, doncs, hem estudiat els efectes de l'estimulació elèctrica intracranial del PF sobre la tasca d'evitació activa de dos sentits, en rates.

ARTICLE 1

Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M. i Morgado-Bernal, I. (1995). *Facilitatory and detrimental effects of parafascicular electrical stimulation upon two-way active avoidance conditioning in rats.* Neurobiology of Learning and Memory, **63**, 209-212.

L'objectiu d'aquest experiment va ser avaluar si l'estimulació elèctrica del PF podia millorar l'adquisició i/o la retenció a llarg termini del condicionament d'evitació activa de dos sentits.

Per assolir aquest objectiu vam considerar dos grups: experimental i control. Als subjectes experimentals se'ls hi va implantar un elèctrode al PF, mentre que els subjectes controls van ser operats sense implantació de cap elèctrode (grup control Sham). El condicionament consistia en 5 sessions d'adquisició (una diària), de 10 assaigs cadascuna, i, passats 10 dies, una sessió de retenció de 10 assaigs. Immediatament després de les sessions d'adquisició, s'administrava el tractament d'estimulació del PF, que consistia en corrent de baixa intensitat (20 μ A) proporcionat durant 2 o 10 minuts. Vam triar aquests paràmetres per tractar d'evitar problemes sorgits amb anterioritat en uns altres experiments (Guillazo-Blanch *et al.*, 1995). En aquest estudi anterior l'estimulació del PF era de major intensitat i s'aplicava durant més temps (que en el present experiment) ja que abans del tractament postentrenament els

subjectes també eren estimulats en unes sessions prèvies de recerca d'una intensitat de corrent no convulsiva. L'anàlisi histològica va indicar que aquests paràmetres d'estimulació havien provocat una certa lesió del PF.

ARTICLE 2

Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G. i Morgado-Bernal, I. (1997). *Differential site-specific effects of parafascicular stimulation on active avoidance in rats.* Behavioural Brain Research (en premsa).

El segon article conté dos experiments, els quals van ser realitzats per donar consistència a la hipòtesi, sorgida dels resultats de l'experiment anterior, sobre l'existència de diferències regionals del PF quant a la modulació de l'aprenentatge i la memòria. Concretament, l'objectiu era conèixer si l'estimulació elèctrica postentrenament del PF podria afectar diferencialment l'adquisició i retenció de l'evitació activa de dos sentits, en funció de la regió del nucli que fos estimulada.

El primer experiment d'aquest article va intentar confirmar els resultats de l'experiment presentat abans, degut a que eren molt suggerents i inèdits en la bibliografia. En aquesta rèplica ens vam centrar especialment en els dos grups d'estimulació del PF que havien mostrat efecte sobre la tasca d'evitació activa de dos sentits: el grup Central (anomenat Central-PF) i el Posterior (Posterior-PF). Per obtenir una implantació acurada dels elèctrodes en parts específiques del PF, havíem intentat col·locar-los específicament utilitzant diferents coordenades estereotàxiques per a cada regió del nucli (treball no publicat). Però les anàlisis

histològiques van mostrar que els elèctrodes havien quedat distribuïts molt àmpliament en la coordenada àntero-posterior respecte bregma i, a més, molts estaven fora del nucli. Per tant, vam decidir utilitzar la mateixa coordenada per tots els subjectes estimulats i classificar-los segons una categorització a posteriori de les localitzacions dels elèctrodes. L'estratègia seguida va ser a doble cec, és a dir, dos investigadors que no coneixien els resultats conductuals van examinar les seccions histològiques i, seguint criteris topogràfics i morfològics, van assignar les rates als grups Central-PF i Posterior-PF. Respecte al grup Control, en l'estudi precedent (Guillazo-Blanch, 1993; Guillazo-Blanch *et al.*, 1995) vam analitzar l'efecte de les implantacions dels elèctrodes dins i fora del PF, en subjectes no estimulats, sobre l'execució de l'evitació activa de dos sentits. Els resultats van indicar que, en general, la implantació d'un elèctrode no tenia efecte, si bé un petit grup d'animals (els que el tenien en el PF, però exactament en la coordenada -4.30 mm posterior a bregma) van mostrar una tendència al deteriorament. D'altra part, les rates controls amb l'elèctrode sobre el PF van mostrar una execució similar a les rates controls operades sense implantació d'un elèctrode (*sham-operated rats*). Tenint en compte tot això, ens va semblar adient utilitzar un grup control amb els elèctrodes situats just sobre el PF. Pel que fa al procediment, va ser similar al de l'experiment anterior, encara que en el present la durada de l'estimulació va ser de 10 minuts per a tots els subjectes experimentals.

Els resultats d'aquests dos experiments previs van apuntar un possible paper del PF en els processos moduladors de l'aprenentatge i la memòria i semblava probable que el PF pogués presentar diferències regionals quant a la modulació de l'aprenentatge i la memòria. No obstant, malgrat haver suggerit que les àrees posterior i central del PF poden realitzar funcions diferents, aquestes no han estat descrites en la literatura com a regions diferenciades del nucli. Així

doncs, el fet de no haver trobat diferències globals estadísticament significatives entre els grups Posterior-PF i Central-PF i el grup Control podria deure's a que la regionalització del PF seguint un criteri d'àntero-posterioritat no sigui la més adient per observar clars efectes facilitadors o deteriorants.

Per tant, vam dissenyar un altre experiment (el segon de l'article 2), en el que vam seguir el mateix procediment dels precedents i l'objectiu consistia en explorar els efectes de l'estimulació de regions del PF que ja havien estat descrites amb anterioritat, tant anatòmica com funcionalment: el PF medial i el PF lateral. A part, es considerà un grup d'estimulació del PF posterior ja que, d'una banda, aquesta zona podria afectar la tasca de manera oposada a altres regions del PF, tal com ens ho havien suggerit els resultats anteriors. D'altra banda, la localització del FR (feix que permet la divisió del PF en medial i lateral) en relació al nucli no permet una clara divisió de la regió posterior en part medial i part lateral.

ARTICLE 3

Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G., Coll-Andreu, M. i Morgado-Bernal, I. (1997). *Effects of habenular lesions upon two-way active avoidance conditioning in rats*. Neurobiology of Learning and Memory, **68**, 68-74.

En aquest experiment vam voler descartar que l'afectació dels nuclis habenulars no fos la causa dels efectes trobats en els experiments previs, en els que implantàvem elèctrodes al PF. Hi havia diverses raons que ens suggerien aquesta possibilitat. En primer lloc, aquests nuclis estan situats immediatament sobre el PF, en la trajectòria habitual dels elèctrodes que utilitzem pels

tractaments dirigits al PF (estimulació, lesió). A més a més, en el nostre laboratori hem observat que algunes implantacions fortuïtes dels elèctrodes en els nuclis habenulars s'acompanyen d'increments en l'execució de l'evitació activa de dos sentits (Guillazo-Blanch, 1993). D'altra banda, segons alguns treballs (Van Hoesen, MacDougall i Mitchell, 1969; Wilson, Mitchell i Van Hoesen, 1972), les lesions dels nuclis habenulars podrien facilitar l'evitació activa de dos sentits.

Per tant, l'objectiu d'aquest quart experiment va ser determinar si la lesió dels nuclis habenulars podria afectar l'adquisició i la retenció a llarg termini del condicionament d'evitació activa de dos sentits. Les lesions van ser bilaterals i practicades 6 dies abans de les sessions de condicionament, i el procediment seguit va ser el mateix que el comentat en els experiments anteriors.

2. TREBALLS PRESENTATS

ARTICLE 1

Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M. i Morgado-Bernal, I. (1995). *Facilitatory and detrimental effects of parafascicular electrical stimulation upon two-way active avoidance conditioning in rats.* Neurobiology of Learning and Memory, **63**, 209-212.

RAPID COMMUNICATION

Facilitatory and Detrimental Effects of Parafascicular Electrical Stimulation upon Two-Way Active Avoidance Conditioning in Rats

GEMMA GUILLAZO-BLANCH, ANNA VALE-MARTÍNEZ, MARGARITA MARTÍ-NICOLOVIUS,
AND IGNACIO MORGADO-BERNAL¹

Area de Psicobiologia, Departament de Psicologia de la Salut, Universitat Autònoma de Barcelona, Ap. No. 46, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain

To evaluate whether post-training parafascicular intracranial electrical stimulation (PF ICS) can improve acquisition (five sessions, one daily, 10 trials each) and long-term retention (LTR) (one session, 10 trials) of two-way active avoidance conditioning in rats, experimental subjects (Ss) were implanted with an electrode at the parafascicular nucleus (PF). Control Ss were sham operated without implanted electrodes. Immediately after each acquisition session Ss in the experimental groups were stimulated in the PF during 2- or 10-min periods. After histological analyses Ss were grouped according to the antero-posterior PF stereotaxic coordinates for the electrode tip locations. Ss stimulated at the posterior PF area improved acquisition and LTR of the conditioning, whereas Ss stimulated at the central PF area showed detrimental effects upon conditioning. Electrical stimulation of the anterior PF area did not affect conditioning performance. We conclude that PF appears to have differential modulatory roles in acquisition and retention of two-way active avoidance depending on the PF area involved. © 1995 Academic Press, Inc.

The PF is a component of the intralaminar nuclei of the thalamus. In rats, PF lies at an interface between the reticular activation system on the one hand and the basal ganglia system on the other (Cornwall & Phillipson, 1988). The lateral PF projects to the dorsolateral area of the caudate-putamen, to the sensorimotor cortex, and to the lateral subthalamic nucleus. Its medial part innervates the medial subthalamic nucleus, which, in turn, is as-

sociated with limbic basal ganglia circuits (Groenewegen & Berendse, 1994). Moreover, the projections from the PF nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neural populations (Féger, Bevan, & Crossman, 1994). There is growing consensus that the functions of the basal ganglia involve not only strictly sensorimotor aspects of movement programming, but also higher cognitive functions (Middleton and Strick, 1994).

The above-mentioned relations of the PF to the general activation system and the basal ganglia functions led us to consider such a nucleus a good candidate for playing a role in modulating learning and memory processes. Only a few studies have reported effects of PF lesion in rats upon acquisition and retention of different kinds of tasks. The results obtained show a general detrimental effect of this treatment (Guillazo-Blanch, 1993; M'Harzi, Jarrad, Willig, Palacios, & Delacour, 1991; Nyakas, Veldhuis, & De Wied, 1985; Thompson, Crinella, & Yu, 1990). Only two reports have described effects of PF ICS on learning and memory processes. Wilburn and Kessner (1972) observed amnesic effects on an aversive conditioning task after ICS of the non-specific thalamic nuclei in cats. Guillazo-Blanch (1993) also observed detrimental effects upon acquisition of a two-way active avoidance task after PF ICS administered before the training sessions. The detrimental effects found in the latter study were attributed to a tissue lesion produced by PF ICS treatment with relatively high current intensities. In this context, the present work aimed at evaluating the possibility that PF ICS at low

¹ This work was supported by a DGICYT grant (PB92-0617), a DGU grant (1992), and a research fellowship from DGU (to A.V.-M.; DOGC 10-03-93). Address reprint requests to I.M.-B.

current intensities administered immediately after each training session of a two-way active avoidance conditioning can improve acquisition and/or LTR.

Forty-six naive male Wistar rats (age 90 days, weight 369–485 g) were implanted under sodium pentobarbital anesthesia (50 mg/kg, ip) with a monopolar stainless steel electrode (130 μ m) aimed at the PF nucleus (AP, -4.30 mm; L, $+1.20$ mm; and P, -6.20 mm), with the cranium surface as dorsal reference in the right hemisphere (Paxinos and Watson, 1986). Control Ss were sham operated ($n = 10$) without implants.

Following surgical recovery (5 days), animals were given five acquisition sessions, one daily, 10 trials each, of two-way active avoidance conditioning. The conditioned stimulus was an 80-dB, 1-kHz tone of 3-s duration. The unconditioned stimulus was a 1-mA electrical footshock, presented for a maximum of 30 s. The intertrial schedule was a 1-min variable interval. Besides the number of avoidance responses made in each acquisition session, intertrial crossings were also scored. Before the first acquisition session, one adaptation period consisting of 10 min of free ambulation in the shuttle box (Campden Instruments, Ltd.) was given to all Ss in order to familiarize them with the learning conditions. Immediately after each conditioning session experimental Ss were stimulated at the PF. The electrical current parameters consisted of square pulse trains with a train frequency of 1 Hz and 200-ms duration. Each train consisted of 10 pulses of 10-ms duration each. The current level intensity employed was 20 μ A. Ten days after the last training session all Ss were given another identical conditioning session in order to evaluate the level of LTR of the learned response. None of the animals received any ICS treatment before or after this session.

Because no significant (MANOVA) differences were found between 2- and 10-min ICS treatments during acquisition and LTR, we decided to group them in a single PF ICS group. Only Ss with a correct electrode implantation at the PF nucleus were included in the final sample, which consisted of 28 rats. The histological analyses of the PF ICS Ss showed that the electrode tips were located along different PF areas ranging from -3.80 to -4.52 mm posterior to bregma. Therefore, we decided to distribute the PF ICS Ss into three subgroups depending on the PF area affected, as shown in Fig. 1: Anterior-ICS group, Ss with the electrode tip affecting both coordinates -3.80 and -4.16 mm or only -4.16 mm posterior to bregma ($n = 4$); Central-ICS group, Ss with the electrode tip affecting

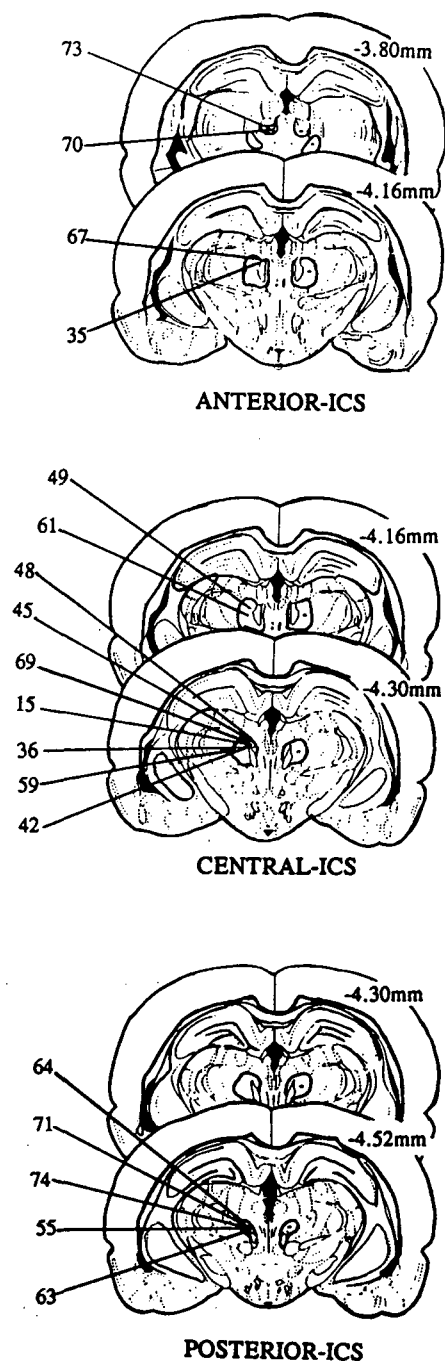


FIG. 1. Electrode tip locations for each animal in the PF ICS groups. Sections correspond to brain sites between -3.80 and -4.16 mm (Anterior-ICS group), -4.16 and -4.30 mm (Central-ICS group), and -4.30 and -4.52 mm (Posterior-ICS group) antero-posterior coordinates with reference to bregma (Paxinos and Watson, 1986).

both coordinates -4.16 and -4.30 mm or only -4.30 mm posterior to bregma ($n = 9$); and Posterior-ICS group, Ss with the electrode tip affecting coordinate -4.52 mm posterior to bregma ($n = 5$).

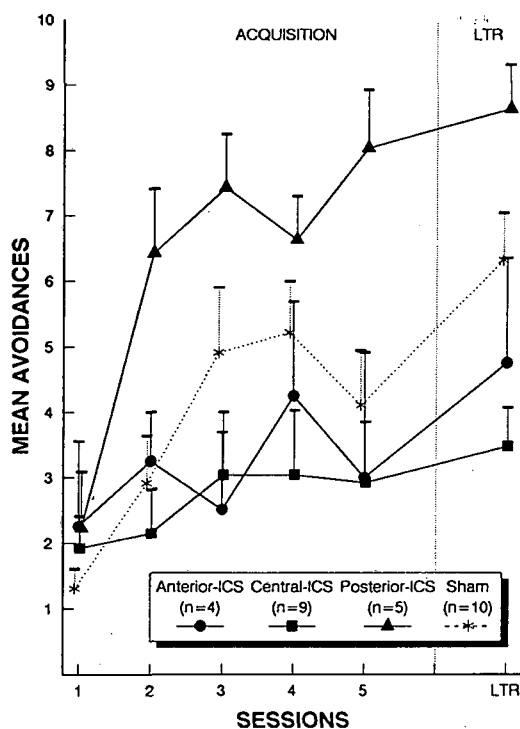


FIG. 2. Effects of PF ICS treatment upon the acquisition and LTR of avoidance conditioning. Results are expressed in means (+ SEM).

Ss with the electrode tip affecting more than two stereotaxic coordinates were excluded from the experiment.

Figure 2 shows the mean number of avoidances over the five acquisition sessions and the LTR session for each group. As shown in this figure, the Posterior-ICS group clearly showed a higher level of conditioning compared with the remaining groups. MANOVA analyses showed significant differences among groups [$F(3, 24) = 4.96, p = .008$]. Specifically, these differences were significant on the 2nd [$F(3, 24) = 4.63, p = .011$], the 3rd [$F(3, 24) = 3.40, p = .034$], and the 5th [$F(3, 24) = 4.02, p = .019$] acquisition sessions and on the LTR session [$F(3, 24) = 6.62, p = .002$]. A contrast analysis (MANOVA, simple contrast) showed that the number of avoidances was significantly higher in the Posterior-ICS group on the 2nd [$F(1, 24) = 9.10, p = .006$] and the 5th [$F(1, 24) = 6.55, p = .017$] acquisition sessions compared to the Control group. There also were significant differences on the 2nd [$F(1, 24) = 13.17, p = .001$], the 3rd [$F(1, 24) = 7.98, p = .009$], the 4th [$F(1, 24) = 6.19, p = .020$], and the 5th [$F(1, 24) = 10.85, p = .003$] acquisition sessions and on the LTR session [$F(1, 24) = 17.94, p < .001$] when compared to the Central-ICS group. Again, significant differences were found between

the Posterior-ICS and the Anterior groups on the 2nd [$F(1, 24) = 4.91, p = .036$], the 3rd [$F(1, 24) = 6.84, p = .015$], and the 5th [$F(1, 24) = 7.18, p = .013$] acquisition sessions and on the LTR session [$F(1, 24) = 6.92, p = .015$]. There were no significant differences between the Anterior-ICS and the Central-ICS groups on any session. The latter two groups performed more poorly than the Control group although differences were found to be significant only between the Central-ICS group and the Control group on the LTR session [$F(1, 24) = 8.11, p = .009$]. Statistical analyses using the NPAR Test, Mann-Whitney, did not show any differences between groups in effects of the duration of treatments (2 or 10 min). No differences appeared among groups in locomotor activity (number of crossings) during the adaptation period, the acquisition, and the LTR sessions.

These findings indicate that post-training PF ICS treatment may have differential effects on the acquisition and retention of two-way active avoidance conditioning depending on the PF area stimulated. Thus, Ss that received post-training ICS treatment in the posterior area of the PF nucleus (Posterior-ICS group) improved acquisition and LTR level when compared to the remaining groups. In contrast, Ss that received ICS treatment in the central PF area (Central-ICS group) showed a poorer LTR compared to the Control and the Posterior-ICS groups. ICS treatment in the anterior area of the nucleus (Anterior-ICS group) did not affect conditioning when compared to the Control group.

In a previous work (Guillazo-Blanch, 1993) we observed that pretraining PF ICS treatment decreased the acquisition of the same kind of task. We attributed these results to a tissue lesion produced by the PF ICS treatment applied at high current intensities. Taking into account the results of the present experiment, we should reconsider the former explanation. Thus, the detrimental effects observed upon conditioning might be a result of the application of PF ICS treatment in the central area of this nucleus that, as we have just seen, seems to produce detrimental effects on learning. However, we cannot confirm this last suggestion because the ICS treatment employed in our precedent work induced some tissue lesion affecting different PF areas simultaneously.

Our present results suggest that the PF nucleus might have facilitatory or detrimental effects upon learning and memory processes depending on the specific areas of this nucleus involved, each of which may in turn be related to different neurobiological functional systems. Although we cannot compare

our results with those of others, they agree with current knowledge about the anatomical and functional relations of PF with the basal ganglia system. As stated above, the lateral area of the PF nucleus is related to motor functions, while its medial area is related to the limbic system (Groenewegen & Berendse, 1994). In support of our suggestion is the fact that the central PF area stimulated in the present experiment coincides with the lateral area of the PF, and the posterior area of this nucleus is more medially situated than the central one. Therefore, PFICS of specific areas may modulate learning and memory processes in a different way by activating several functional systems related to the arousal and/or basal ganglia systems.

REFERENCES

- Cornwall, J., & Phillipson, O. T. (1988). Afferent projections to the parafascicular thalamic nucleus of the rat, as shown by the retrograde transport of wheat germ agglutinin. *Brain Research Bulletin*, *20*, 139-150.
- Féger, J., Bevan, M., & Crossman, A. R. (1994). The projections from the parafascicular thalamic nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neural populations: A comparison with the corticostriatal and cortico-subthalamic efferents in a retrograde fluorescent double-labelling study. *Neuroscience*, *60*(1), 125-132.
- Groenewegen, H. J., & Berendse, H. W. (1994). The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends in Neuroscience*, *17*(2), 52-57.
- Guillazo-Blanch, G. (1993). Effects of stimulation and lesion of the parafascicular thalamic nucleus upon two-way active avoidance conditioning, in rats. Doctoral thesis, Autonomous University of Barcelona, Barcelona.
- M'Harzi, M., Jarrad, L. E., Willig, F., Palacios, A., & Delacour, J. (1991). Selective fimbria and thalamic lesions differentially impair forms of working memory in rats. *Behavioral and Neural Biology*, *56*, 221-239.
- Middleton, F. A., & Strick, P. L. (1994). Anatomical evidence for cerebellar and basal ganglia involvement in higher cognitive function. *Science*, *266*, 458-461.
- Nyakas, C., Veldhuis, H. D., & De Wied, D. (1985). Beneficial effect of chronic treatment with ORG2766 and A-MSH on impaired reversal learning of rats with bilateral lesions of parafascicular area. *Brain Research Bulletin*, *15*(3), 257-265.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (2nd ed.). Sydney: Academic Press.
- Thompson, R., Crinella, F. M., & Yu, J. (1990). *Brain mechanisms in problem solving and intelligence*. New York: A. R. Liss.
- Wilburn, M. W., & Kessner, R. P. (1972). Epithalamic and ventral tegmental contributions to avoidance behavior in rats. *Journal of Comparative Psychology*, *78*, 442-449.

ARTICLE 2

Vale-Martínez, A., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G. i Morgado-Bernal, I. (1997). *Differential site-specific effects of parafascicular stimulation on active avoidance in rats.* Behavioural Brain Research (en premsa).

Dr. I. Morgado-Bernal
Dept. de Psicobiologia i de Metodologia
de les Ciències de la Salut
Universitat Autònoma de Barcelona
08193 Bellaterra (Barcelona)
Spain

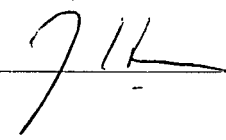
Dear Author(s):

The following manuscript has been accepted for publication in **Behavioural Brain Research**

Title: Differential site-specific effects of parafascicular stimulation on active avoidance in rats

Author(s): Vale-Martínez et al.

Date of receipt: Aug. 6th, 1997
Date of receipt of revised version: Sep. 25th, 1997
Date of acceptance: Sep. 25th, 1997

Sincerely yours  Editor

REMARKS

MS also on disk
Full Length Article

DIFFERENTIAL SITE-SPECIFIC EFFECTS OF
PARAFASCICULAR STIMULATION ON ACTIVE
AVOIDANCE IN RATS.

Anna Vale-Martínez

Margarita Martí-Nicolovius

Gemma Guillazo-Blanch

Ignacio Morgado-Bernal*

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut,
Universitat Autònoma de Barcelona,
08193 Bellaterra (Barcelona), Spain

Phone.: (34/3) 581 18 50

Fax: (34/3) 581 20 01

E-mail: ilpb4@cc.uab.es

* Corresponding author

Abstract

To study the effects of parafascicular intracranial electrical stimulation (PF ICS) on two-way active avoidance acquisition (5 training sessions of 10 trials each, one session per day) and long-term retention (1 session of 10 trials), two experiments were carried out. Experiment I tested if posttraining PF ICS can differentially affect the conditioning, depending on the stimulated region of the nucleus. Results indicated that rats stimulated at the posterior region of the parafascicular nucleus (PF) showed a better acquisition than those stimulated at the central one. Experiment II evaluated the effects of the stimulation at the medial, lateral, and posterior parts of the PF area on the same task. Results showed that medial and lateral PF ICS disrupted two-way active avoidance, and that posterior PF ICS enhanced the long-term retention of the conditioning. These results suggest a possible role of the PF in modulatory processes of learning and memory, confirming that this nucleus is functionally heterogeneous. Potential facilitative effects are discussed as the relations of the PF to the arousal system and the subparafascicular thalamic nucleus. Disruptive effects are discussed based on the relations of the PF with the "motor" and "associative-limbic" basal ganglia circuits.

Keywords: Parafascicular nucleus; Electrical stimulation; Two-way active avoidance; Learning; Memory

1. Introduction

The parafascicular nucleus (PF) in rats, or centre median-parafascicular complex (CM-PF) in primates [14, 19, 22] is a component of the intralaminar nuclei of the thalamus, strategically in the middle of the brain, and related to several functional systems closely involved in general brain activation mechanisms: the ascending reticular activating system [24], the sleep-wake cycle [38], the basal ganglia-thalamocortical system [14], pain modulation [10], and brain reward mechanisms [8]. In the rat, the PF receives inputs, mainly cholinergic, from the mesencephalic reticular formation, the pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei, and the parabrachial nuclei [9, 35] and projects to the lateral frontal cortex [2, 4]. The lateral PF (CM in primates) projects to the dorsolateral area of the caudate-putamen, the sensorimotor cortex, and the lateral subthalamic nucleus, which has strong reciprocal connections with pallidal and nigral relay stations of the "motor circuit". The medial PF (PF in primates) projects to the associative-limbic striatum and the medial subthalamic nucleus, which, in turn, is associated with "limbic" basal ganglia circuits [14]. Topographically and cytologically, the PF is closely related to the subparafascicular nucleus (SPF). The boundaries between the posterior region of the PF and the SPF are not strict, but rather represent a fuzzy transitional zone. In primates, the PF-SPF complex projects to the hypothalamus, the substantia innominata, the peripeduncular nucleus, and the amygdala [34].

The PF has been involved in psychiatric disorders, in neurological diseases, and also in learning and memory processes, but its precise role is still uncertain. Lesions of CM-PF in humans and primates produce behaviours similar to some negative symptoms of schizophrenia [45]. Huntington's disease patients show nerve cell loss in CM-PF complex besides striatal atrophy [18]. Concerning learning and memory, it is well established that damage to the midline diencephalon produces severe and persistent amnesia, the so-called

"diencephalic or thalamic amnesia" [30]. Lesions of the CM-PF complex also produce thalamic amnesia in humans [27]. In rats, the role of the PF in learning and memory processes has principally been examined by the effects of bilateral PF lesions on conditioned avoidance responses (CARs). The most common tasks have been: shuttle-box avoidance [1, 16], pole-jump avoidance [44], and T-maze, with footshock as a motive, testing reversal learning [29, 42]. Results indicate that PF lesions impair CARs [12] and disrupt escape and avoidance responses evoked by stimulation of the nucleus gigantocellularis [33].

Not many reports have examined the effects of PF lesions on appetitive learning tasks. The results of earlier studies were inconsistent. On the one hand, no effects on the acquisition of a positively reinforced bar-press task [6, 11] and a simple maze task [13] were shown. On the other hand, PF lesions produced detrimental effects on the acquisition of a complex maze task [13]. More recent evidence has also shown that PF lesions impair tasks measuring general learning ability [40, 41] and working memory [25]. The findings in cats agree with recent studies in rats. For example, a study [28] reported that bilateral PF lesions impaired a positively reinforced task.

There is also little information about the effects of PF intracranial electrical stimulation (ICS) on learning and memory processes. The results are even more controversial than those from studies on PF lesions. PF ICS has been shown to impair CARs (see [7] for a review, and [46]). However, Cardo [7] reported improvement in one-way active avoidance when PF ICS was applied immediately before each conditioning trial on alternate sessions. He concluded that PF ICS had opposed effects to PF lesions on learning and memory processes. In our laboratory, stimulation of the posterior region of the PF, applied immediately after each training session, improved two-way active avoidance acquisition, whereas stimulation of the central region of the PF interfered with the long-term retention

(LTR) of the task [17]. Such findings indicate that PF ICS could affect acquisition and LTR of two-way active avoidance conditioning in an opposite way depending on the PF involved region. These differential effects could result from the heterogeneous relations of the nucleus with several neurobiological systems. That is, the stimulation of specific PF regions might activate different functional systems, resulting in opposite effects on learning and memory processes. The functional regionalization of the PF could, therefore, account for some results above mentioned.

In this context, the present experiments have been designed to confirm and to examine in depth the effects of PF ICS at different regions on two-way active avoidance.

2. Experiment I

Experiment I attempted to confirm previous data [17] showing that posttraining PF ICS affects differentially acquisition and LTR of two-way active avoidance depending on the PF stimulated region. To obtain an accurate placement of the electrodes into precise PF parts, we have intentionally tried to aim them at specific PF regions by using different stereotaxic coordinates for each region of the nucleus (unpublished data). The histological analyses showed that the electrodes were widely distributed along the anteroposterior stereotaxic coordinate and many of them were not in the PF. Therefore, we decided to use the same coordinate for all the PF ICS rats and classify them according to a double-blind posteriori categorization of their electrode locations. In the present experiment, we have only considered the two PF ICS groups shown to affect the conditioning in the previous study: Central-PF and Posterior-PF. Regarding the Control group, in preceding studies [15, 16] we analyzed the possible effects of electrode implantations inside the PF comparing the two-way active avoidance performance of these animals to that of control subjects implanted outside

the PF. The results showed that the only animals slightly affected by the electrode implantation were those implanted exactly in the coordinate -4.30 mm posterior to bregma. Thus, a control group implanted just above the PF seems to be suitable for evaluating the effects of PF electrical stimulation because their performance was very similar to that of control animals implanted in specific locations of the PF, and also did not differ from sham-operated animals (without electrodes) [17].

2.1. Materials and methods

Subjects. Thirty-four naive male Wistar rats, obtained from our laboratory breeding stock (mean age 98.6 days, weight 325-505 g at the first learning session), were used. The rats were singly housed, always kept under conditions of controlled temperature (20-25°C) and humidity (40-70%), and subjected to an artificial light/darkness cycle of 12/12 h (lights on at 8:00 a.m.). Food and water were available *ad libitum*. The rats were tested during the first half of the light cycle.

Electrode implantation. Under general anaesthesia with sodium tiopental (50 mg/Kg, ip) each PF ICS rat was implanted with a monopolar stainless steel electrode (130 μm in diameter) aimed at the PF nucleus, in the right hemisphere, according to coordinates from the stereotaxic atlas of Paxinos and Watson [32]: AP = -4.52 mm from bregma, L = +1.20 mm from midline, and P = -6.60 mm from cranium surface. The control rats underwent similar procedures with the electrode implanted above the PF (P = -6.00 mm from cranium surface). Electrodes were anchored to the skull with jeweller's screws and dental cement.

Apparatus. Active avoidance testing was conducted in a 48.5 x 23.1 x 20.7-cm two-way shuttle-box (Campdem Instruments, Ltd.). Compartment floors were independently electrifiable and constructed of stainless-steel bars. The box was illuminated by two 2.8-w lamps located at the ceiling of the box. The shuttle-box was enclosed in a sound-attenuating box ventilated by an extractor fan. The conditioned stimulus (CS) was an 80-dB and 1-KHz tone of 3 s duration. The unconditioned stimulus (US) was a 1-mA electrical footshock, presented for 30 s at maximum. The interval between the CS and US was a short delay-conditioning procedure, in which the US was presented immediately after the end of the CS. The intertrial schedule was a 1-min variable interval (ranging from 50 to 70 s).

The ICS treatment was applied in a stimulation cage (46 x 43 x 47 cm) constructed of Plexiglas. The electrical current parameters consisted of square pulse trains with a train frequency of 1 Hz and 200 ms duration. Each train consisted of 10 pulses of 10 ms duration each. The current intensity employed was 20 μ A.

Procedure. Once the rats had recovered from surgery (5 days), they were given 5 acquisition sessions (10 trials each, one session per day) of two-way active avoidance conditioning. Before the first trial of the first acquisition session, the rats were allowed to ambulate freely in the shuttle-box for 10 min to become familiarized with the learning conditions (see [23]). During the learning training, animals avoided the shock by crossing into the adjacent compartment when the CS was on. Besides the number of avoidance responses made in each acquisition session (considered as the level of performance), intertrial crossings and crossings during the free ambulation period were also scored and considered measures of locomotor activity.

Immediately after each acquisition session, PF ICS rats were placed in the stimulation cage and stimulated at the PF for 10 min. Control rats were placed in the same cage with the electrode clip connected but they never received ICS treatment.

Ten days after the last training session, all rats were given another 10-trial conditioning session to evaluate the LTR of the learned response. None of the rats received any ICS treatment after or before this session.

Histology. After the completion of the behavioural tests, the rats were sacrificed with an overdose of sodium tiopental and perfused intracardially with 10% formalin in distilled water. The brains were removed and placed in a 30% sucrose solution before being sectioned at a thickness of 40 μ m with a cryostat (Cryocut 800 with microtome 2020, Jung). For each rat, we collected all the brain tissue sections in which the electrode track was observed. The sections were stained with Cresyl violet and examined under a light microscope. Electrode track locations were reconstructed on standardized sections of the rat brain [32].

Data analyses. The main analyses have been carried out considering the independent variable as qualitative (group: 3 categories) and the dependent variables as quantitative (number of avoidances of each session). Thus, mixed analyses of variance were performed (SPSS/PC+) with their correspondent contrast analyses (simple or repeated for between-group effect, and polynomial or repeated for within-group effect).

2.2. Results

Histology. Assignment of PF ICS rats to groups was done according to electrode placements following a double-blind strategy: two observers who were not aware of the behavioural results examined the brain sections and assigned the rats to a treated group: Central-PF or Posterior-PF. Topographical and morphological criteria were used to distinguish a central region from a posterior region of the nucleus. In the rat, a large central PF region (-4.16 mm and -4.30 mm posterior to bregma; [32]) is easily recognizable on coronal sections because it surrounds, both medially and laterally, the fasciculus retroflexus (FR), which divides the nucleus into two parts: medial PF and lateral PF. A posterior PF region (-4.52 mm posterior to bregma; [32]) surrounds dorsally the FR, which appears smaller and more ventral than on anterior sections. Therefore, it is difficult to distinguish a medial part from a lateral one in the most caudal region of the PF.

The histological analyses of the brain sections showed that the electrode tracks were located along different brain sites ranging from -3.60 mm to -5.20 mm posterior to bregma. A stimulated rat was assigned to the Central-PF group ($n=7$) if its electrode track was seen in the central region of the PF (-4.16 mm and -4.30 mm, but not at -4.52 mm posterior to bregma). A stimulated rat was assigned to the Posterior-PF group ($n=9$) if its electrode track was detected at more posterior brain sections, affecting the PF only at -4.52 mm posterior to bregma.

The criteria for excluding PF ICS rats from the statistical analyses were: (1) rats with their electrode track outside the PF ($n=4$). These electrodes were at the posterior commissure, the Darkschewitsch nucleus, the posterior thalamic nuclear group, and the white matter above the PF [32]; (2) rats with their electrode track at anterior brain sites affecting only the anterior PF area (-3.80 mm posterior to bregma, $n=3$); and (3) rats with their

electrode track affecting the PF at more than 2 stereotaxic coordinates plates on which the nucleus appears (-4.16 mm, -4.30 mm, and -4.52 mm posterior to bregma, n=1).

The Control group (n=7) was composed of rats whose electrodes were outside the PF at brain sections between -4.16 mm and -4.52 mm posterior to bregma. Control rats with their electrode in the PF (n=2) or at very anterior brain sections (-3.60 mm posterior to bregma, n=1) were excluded from the statistical analyses.

There were not significant differences between the PF ICS rats eliminated from the analyses and the Control group regarding the number of avoidances in the acquisition and the LTR sessions.

The final sample consisted of 23 rats. Figure 1 shows the electrode tip locations for all rats included in the statistical analyses. The electrode tip location for each rat is represented on the stereotaxic plate where the electrode track reached the greatest depth into the brain tissue.

Shuttle-Box locomotor activity. The number of intertrial crossings made in each conditioning session showed significant positive correlations with the number of avoidances made in the same session on the 4th: $r(21) = 0.4947$, $P = .01$, and the 5th: $r(21) = 0.5009$, $P = .01$, acquisition sessions. Nevertheless, MANOVA did not detect any statistical difference among groups in the number of crossings performed during the 10 min-free ambulation period, the acquisition, or the LTR sessions.

Acquisition and LTR of two-way active avoidance. Figure 2 depicts the mean avoidances throughout the 5 acquisition and the LTR sessions in each group. As shown in this figure, the Posterior-PF group made more avoidances on all the acquisition sessions than

the remaining groups. The Central-PF group performed worse than the other two groups on some acquisition sessions and the LTR. MANOVA analyses proved significant differences among groups: $F(2,20)=3.98, P=.035$. Overall (MANOVA, simple-contrast), the Posterior-PF group and the Central-PF group differed significantly: $F(1,20)=7.90, P=.011$. A contrast analysis (MANOVA, simple-contrast) showed that the Posterior-PF group made more avoidances than the Central group on the 1st: $F(1,20)=4.78, P=.041$, the 3rd: $F(1,20)=6.22, P=.022$, the 4th: $F(1,20)=6.6, P=.018$, and the 5th: $F(1,20)=7.11, P=.015$, acquisition sessions. The Posterior-PF group made more avoidances than the Control group on the 4th acquisition session: $F(1,20)=5.99, P=.024$. Although no significant general differences were found between the Central-PF group and the Control group, a tendency for impaired LTR performance was observed in the Central-PF group.

Contrast analyses of differences among sessions showed significant increases in the number of avoidances from the 1st to the 2nd session in all groups: Posterior-PF: $F(1,20)=21.02, P<.001$, Central-PF: $F(1,20)=10.50, P=.004$, and Control: $F(1,20)=14.19, P=.001$; from the 2nd to the 3rd session in: Posterior-PF group: $F(1,20)=13.20, P=.002$, and Control group: $F(1,20)=7.07, P=.015$; and from the 4th to the 5th in the Control group: $F(1,20)=15.23, P=.001$. Moreover, comparisons between groups showed that the Posterior-PF group tended to improve more than the Central-PF group from the 2nd to the 3rd session: $F(1,20)=11.04, P=.089$, and that the Control group improved more than the Central-PF group from the 4th to the 5th session: $F(1,20)=5.05, P=.044$.

2.3. Discussion

In general, the present findings are consistent with previous data [17]: rats in the Posterior-PF achieved a higher level of performance than rats in the Central-PF group. Although no statistically significant general differences were found between the stimulated groups and the Control group, rats in the Posterior-PF made more avoidances than control rats during the acquisition process, specially on the fourth session. In contrast, the Central-PF group made fewer avoidances than the control rats, showing a tendency for LTR impairment. In addition, Posterior-PF and Control groups showed significant increments in the number of avoidances from the first to the third session whereas the Central-PF group only increased significantly from the first to the second session. Therefore, electrical stimulation of different PF regions seems to influence differentially two-way active avoidance. Nevertheless, on the first acquisition session (i.e., before stimulation) the Posterior-PF group made more avoidances than the Central-PF group, suggesting a possible effect of the electrode implant on the subsequent rats' performance. A possible improving or impairing effect, which has also been observed in the Experiment II, can be attributed to the mere implantation of the electrodes in particular PF regions. Although previous studies [15, 16] suggested a slight impairment after electrode implantation in the central PF area (exactly in the coordinate -4.30 mm posterior to bregma), no effects were observed after electrode implantation in the posterior PF area in control rats. The initial differences observed in the present study could mirror differences observed throughout posterior training sessions. However, both stimulated groups converged on the second acquisition session and then they significantly differed again on the third, fourth and fifth acquisition sessions. This suggests that stimulation might sustain or potentiate the possible facilitative or inhibitory effects of the electrode implant. Actually, the initial differences increased throughout the

acquisition sessions. Thus, during the first three sessions there were only differences between the two PF ICS groups. Afterwards, the Posterior-PF group even differed from the Control group during the acquisition process, whereas the Central-PF group showed a tendency for impaired LTR performance.

Results of the Experiment I suggest a possible role of the PF in modulatory processes of learning and memory. It is likely that stimulation and/or electrode implant in particular PF regions affects differentially acquisition and retention of two-way active avoidance, supporting the hypothesis of regional differences of PF on learning and memory. Nevertheless, we have not detected significant overall differences between the PF ICS groups and the Control group. It could be due, at least in part, to the fact that the division of the PF into central and posterior regions is not the most appropriate for observing clear facilitative or detrimental effects on learning and memory processes following stimulation. To resolve this question, we designed a new experiment that explored the effects of stimulating PF regions that have anatomically and functionally been distinguished, such as the lateral part and the medial part of the nucleus. As previously mentioned, the lateral part of the PF is related to motor functions, whereas its medial part is related to the limbic system [14]. Therefore, the ICS of each of these two regions could have differential effects on the conditioning. In addition, a posterior PF region could be considered as a functionally different region of the PF, related to SPF functions, since the posterior region of the PF overlaps the SPF to some extent [21].

3. Experiment II

The aim of the Experiment II was to evaluate the effects of ICS of medial PF, lateral PF, and posterior PF on two-way active avoidance. We decided to analyze the effects of ICS applied at the posterior PF area because Experiment I and previous data [17] have raised the possibility that the stimulation of Posterior PF could affect the task in an opposite way to the stimulation of other PF regions. Moreover, the location of the FR in relation to the PF does not permit a clear division of the posterior region into medial and lateral parts.

3.1. Materials and methods

Subjects. One hundred and twenty-eight naive male Wistar rats, obtained from our laboratory breeding stock (mean age 91.9 days, weight 340–482 g at the beginning of the experiment) were used. Rats were maintained with the procedures described for Experiment I.

Electrode implantation. Surgical procedures were the same as in Experiment I. To obtain rats implanted at the medial PF, stereotaxic coordinates were slightly different from those used in the Experiment I. The coordinates for PF ICS rats were: AP = -4.30 mm from bregma, L = $+1.00$ mm from midline, and P = -7.00 mm from cranium surface [32]. The control rats underwent similar procedures with the electrode implanted above the PF (P = -6.00 mm from cranium surface).

Apparatus. The shuttle-box and the stimulation cage were the same as in Experiment I.

Procedure. The rats had a period of surgical recovery, received a conditioning paradigm and an ICS treatment identical to those described for Experiment I, except that the LTR test was applied eleven days after the last acquisition session.

Histology. The histological methods were like those used in Experiment I.

Data analyses. The statistical methods were the same as in Experiment I, but the group factor had 4 categories.

3.2. Results

Histology. General criteria and landmarks used to distinguish different regions of the nucleus have been explained in the Experiment I. Examination of the brain sections revealed that the electrode tracks were located along different brain sites ranging from -3.60 mm to -5.30 mm posterior to bregma. The assignment of rats to groups was done according to their electrode placements following a double-blind strategy. PF ICS rats have been classified into three groups: Medial-PF, Lateral-PF, and Posterior-PF. A rat was assigned to the Medial-PF group (n=9) if its electrode track was seen at the medial PF (medial to the FR) at -4.16 mm and -4.30 mm, but not at -4.52 mm posterior to bregma. A rat was assigned to the Lateral-PF group (n=12) if its electrode track was seen at the lateral PF (lateral to the FR) at -4.16 mm and -4.30 mm, but not at -4.52 mm posterior to bregma. A rat was assigned to the Posterior-PF group (n=11) if its electrode track was seen at more posterior brain sections, affecting the PF only at -4.52 mm posterior to bregma.

The criteria for excluding PF ICS rats from the statistical analyses were the same as those used in the Experiment I. Fifty-five rats were excluded because of these criteria. The electrodes outside the PF were at the posterior commissure, the Darkschewitsch nucleus, the white matter above the PF nucleus, the nucleus of posterior commissure, the magnocellular nucleus of the posterior commissure, the interstitial nucleus of the medial longitudinal fasciculus, and the prerubral field [32]. Because the stimulation of the FR could affect learning and memory processes in a different way than PF ICS (FR conveys efferent fibers from the habenular complex to the midbrain, [39]), rats whose electrode tracks were clearly observed in the FR were excluded (n=6). Two rats were also excluded because of problems with the histological process.

The Control group (n=18) was composed of rats whose electrodes were outside the PF at brain sites between -4.16 mm and -4.52 mm posterior to bregma. Control rats with their electrode in the PF (n=1) or at very posterior brain sections (-4.80 mm or more posterior to bregma, n=14) were excluded from the analyses.

There were not statistical differences between the PF ICS rats eliminated from the analyses and the Control group regarding the number of avoidances in the acquisition and the LTR sessions.

The final sample consisted of 50 rats. Figure 3 shows the electrode tip locations for all rats included in the statistical analyses. The electrode tip location for each rat is represented in the same way as in Experiment I.

Shuttle-box locomotor activity. No statistical differences in the number of crossings performed by the rats were detected between groups either during the 10-min free ambulation period, or the acquisition and LTR sessions.

Acquisition and LTR of two-way active avoidance. Figure 4 depicts the mean avoidances throughout the 5 acquisition sessions and the LTR session in each group. As shown in this figure, the Posterior-PF group made more avoidances in all the acquisition and LTR sessions than the remaining groups. Medial-PF and Lateral-PF groups always performed worse than Control and Posterior-PF groups. MANOVA analyses proved significant differences among groups: $F(3,46)=5.18, P=.004$. The interaction effect between group and session was also statistically significant, $F(15,230)=1.91, P=.020$. Overall, the Posterior-PF significantly differed from the Medial-PF: $F(1,46)=4.58, P=.038$, and from the Lateral-PF: $F(1,46)=4.35, P=.043$. Overall differences were also found between the Control and the Medial-PF: $F(1,46)=4.58, P=.038$, and between the Control and the Lateral-PF: $F(1,46)=4.35, P=.043$.

A contrast analysis (MANOVA, simple-contrast) showed that the Posterior-PF group made more avoidances than the Medial-PF group, on the 1st: $F(1,46)=14.8, P<.001$, the 2nd: $F(1,46)=8.44, P=.006$, the 3rd: $F(1,46)=5.33, P=.026$, and the 4th: $F(1,46)=6.78, P=.012$, acquisition sessions, and on the LTR session: $F(1,46)=12.63, P=.001$. The Posterior-PF group made more avoidances than the Lateral-PF group, on the 1st: $F(1,46)=8.13, P=.007$, the 3rd: $F(1,46)=4.75, P=.034$, the 4th: $F(1,46)=9.21, P=.004$, and the 5th: $F(1,46)=4.44, P=.041$, acquisition sessions, and on the LTR session: $F(1,46)=19.19, P<.001$. The Posterior-PF group also made more avoidances than the Control group, on the 1st acquisition session: $F(1,46)=10.48, P=.002$, and on the LTR session: $F(1,46)=4.42, P=.039$.

A contrast analysis (MANOVA, simple-contrast) showed that the Medial-PF group made fewer avoidances than the Control group, on the 2nd acquisition session: $F(1,46)=7.23, P=.01$, and on LTR session: $F(1,46)=3.69, P=.06$. The Lateral-PF group made fewer

avoidances than the Control group, on the 4th: $F(1,46)=4.18$, $P=.047$, and the 5th: $F(1,46)=4.41$, $P=.041$, acquisition sessions, and on LTR session: $F(1,46)=7.42$, $P=.009$. Medial-PF and Lateral-PF did not show significant differences between them on any session.

The course of learning throughout the 5 acquisition and the LTR sessions showed a significant upward linear tendency, MANOVA polynomial-contrast (1st degree), $F(1,46)=39.54$, $P<.001$, with significant differences among groups: $F(3,46)=3.64$, $P=.019$. Posterior-PF, Medial-PF and Control groups showed a significant linear tendency [$F(1,46)=17.75$, $P<.001$, $F(1,46)=9.6$, $P=.003$, $F(1,46)=27.86$, $P<.001$, respectively], whereas Lateral-PF did not show such a tendency. The Control group showed a significant quadratic tendency (2nd degree), $F(1,46)=10.07$, $P=.003$.

Contrast analyses of differences among sessions showed significant increases in the number of avoidances from the 1st to the 2nd session in the following groups: Posterior-PF, $F(1,46)=29.1$, $P=.004$, Medial-PF, $F(1,46)=6.26$, $P=.016$, and Control, $F(1,46)=38.17$, $P<.001$; from the 2nd to the 3^d session in: Posterior-PF, $F(1,46)=9.63$, $P=.003$, Medial-PF, $F(1,46)=8.76$, $P=.005$, and Control, $F(1,46)=5.41$, $P=.035$. Finally, only the Posterior-PF group showed an increment from the 5th to the LTR session, $F(1,46)=9.08$, $P=.004$.

On the other hand, comparisons between groups showed statistically significant differences regarding the increments in avoidances from the 1st to the 2nd session between Lateral-PF and Control: $F(1,46)=7.06$ $P=.013$; from the 2nd to the 3^d session between Medial-PF and Lateral-PF: $F(1,46)=8.19$ $P=.010$, and between Lateral-PF and Posterior-PF: $F(1,46)=4.16$ $P=.051$. From the 5th to the LTR, Posterior-PF improved more than Control: $F(1,46)=5.02$ $P=.034$, than Medial-PF: $F(1,46)=7.02$ $P=.016$, and than Lateral-PF: $F(1,46)=10.14$ $P=.004$.

3.3. Discussion

The results of Experiment II indicate that Posterior-PF group improved in two-way active avoidance LTR, whereas Medial-PF and Lateral PF groups showed disruption in the conditioning. Posterior-PF rats exhibited a better performance than Medial-PF and Lateral-PF rats on the acquisition and LTR sessions, and than control rats on the LTR session. Medial-PF and Lateral-PF groups did not differ between them and performed worse than the Control group. Detrimental effects, observed in Lateral-PF and Medial-PF groups, were more pronounced on the LTR session. In broad outline these findings are consistent with those found in the Experiment I and with our previous study [17]. These results suggest that electrical stimulation at specific PF regions could affect differentially two-way active avoidance.

In Experiment II, and also in Experiment I, the Posterior-PF group showed a better performance than the other groups on the first acquisition session (prestimulation). As we stated above, in a previous study [15], control rats implanted in the posterior PF showed a similar two-way active avoidance performance to the control rats implanted just above the PF. Therefore, it is difficult to explain the initial improvement in this group, which could account for some differences found on posterior sessions between the Posterior-PF and the remaining groups. However, the statistical analyses showed that the initial differences disappeared on some subsequent acquisition sessions. Posterior-PF and Control groups did not differ on the second session, and both groups performed similarly during the remaining sessions. Improving effects in the Posterior-PF group only appeared on the LTR session. In addition, Posterior-PF improved significantly more than the other groups from the fifth session to the LTR session. The initial differences between Posterior-PF and Lateral-PF vanished on the second session. From this session, lateral PF ICS seemed to cause a

progressive deterioration in the conditioning when compared to both the Posterior-PF and the Control. The differences during the acquisition process observed between the Medial-PF and the Posterior-PF groups on the first four sessions disappeared on the last acquisition session and then they differed again on the LTR session. Therefore, a possible improving effect due to electrode placement (on the first session) can not be fully rejected though stimulation of the posterior PF could have contributed to sustain and also to potentiate this effect, specially on the LTR.

Medial-PF and Lateral-PF groups showed poorer conditioning than the Control and Posterior-PF groups. So, it is reasonable to think that stimulation at medial and lateral PF regions deteriorates two-way active avoidance. However, the electrodes for unstimulated control animals were implanted in a different area (above PF) than the electrodes for the stimulated animals. A previous study [16] showed that electrode placement in central (i.e., medial and lateral) PF regions seemed to produce some detrimental effects on learning, whereas control rats with the electrode above the PF performed similar to sham operated rats without electrode implantation [17]. Therefore, the mere placement of electrodes in the lateral and medial PF regions might have contributed to the detrimental effects observed in the present experiment. Anyhow, the disruption induced by electrode placement in central PF regions [16] was not as strong as those observed in Experiment II after medial and lateral PF ICS. Thus, despite the lack of a control group implanted in the PF in the present experiments and given the relatively consistent results from Experiment I and Experiment II (also the previous studies), we think that the effects observed in our study could be mainly due to the stimulation, although the slight effects of electrode implantations could have been added to the effects of the electrical stimulation. This possibility does not argue against our

main suggestion about a possible functional regionalization of the PF regarding learning and memory modulation.

4. General Discussion

It had been already reported that PF ICS might facilitate learning and memory processes. Cardo [7] observed improvement in one-way active avoidance conditioning when PF ICS was administered immediately before each conditioning trial on alternate sessions. Since their results contradicted other studies (see discussion in [7], and [46]), this author suggested that the discrepancies could be explained on methodological grounds as the stimulus frequency employed. It has long been known that EEG and behavioural reactions to the stimulation of the "non specific" thalamus can be opposite depending on the stimulation frequency (e.g. [5]). Therefore, the suggestion that stimulation frequency may be an important factor is certainly plausible. Nevertheless, having considered our results, we suggest that it seems also admissible that PF ICS produces improvement or impairment of learning and memory depending on the particular PF stimulated region since we have used the same ICS parameters for all the stimulated animals and they showed opposite two-way active avoidance performances. Anyway, it would be also important to evaluate intensity functions to show that the regional differences truly reflect differences inherent to PF regions.

In Experiment I and in the former study [17], improving effects following posterior PF ICS were mainly detected on the acquisition sessions, whereas in Experiment II these effects were detected on the LTR session. This discrepancy is difficult to explain, although it could be attributed to differences of the control groups or to the actual placement of electrodes in different locations, since posterior PF ICS rats in Experiment II were

implanted, in general, more ventral and lateral than posterior PF ICS rats in Experiment I. Anyhow, further experiments are necessary to determine if posterior PF ICS improves the acquisition or the LTR of two-way active avoidance. Still, the improvement in the LTR observed in the Experiment II suggests the possibility that the posterior region of the PF could be more involved in the long-term memory consolidation than in the initial acquisition of a task.

The interpretation of the effects of posterior PF stimulation and/or electrode implant on two-way avoidance is complex. The medial and lateral PF regions have anatomically and functionally been differentiated, but a specific posterior PF area has not been described. We can consider at least two possible explanations for our results. One could be the involvement of the intralaminar nuclei in regulating arousal and vigilance. In this sense, a positron emission tomographic study showed activation of thalamic intralaminar nuclei when human subjects went from a relaxed state to an attention-demanding task [20]. Moreover, intralaminar nuclei have been implicated in the production or modulation of cortical gamma oscillations in the cortex [3, 36, 37]. It has been proposed that the intralaminar nuclei rather than driving the cortical oscillations, they are essential in coordinating activity between several cortical areas, and may thus contribute to the formation of global perceptions of complex stimuli [36]. All this evidence leads us to suggest that the PF, particularly its posterior region, could be an area involved in facilitative mechanisms of learning and memory because of its role in arousal.

The second explanation is based on the relations between PF and SPF. The connections of the SPF may play a role in somatic and autonomic responses to acoustic and somesthetic stimuli [47]. The boundaries between PF and SPF are fuzzy, as seen on Nissl-stained material. The medial region of the SPF, where it adjoins the PF, is clearly complex,

and subnuclei are evident. The CM-PF complex lacks of CaBP immunostaining, but cells within SPF are intensely immunostained for CaBP, allowing discrimination from the PF. However, at the posterior region of the CM-PF, CaBP-immunopositive cells are found in the ventral part of the PF. Thus, PF contains in this region elements typical of SPF [34]. In Experiment II, most of the rats in the Posterior-PF group ($n=7$) had the electrodes implanted at the ventral region of the PF near the SPF. Considering that it is difficult to discriminate the posteroventral region of the PF from the SPF on our histological material, it could be possible that the improvement in two-way active avoidance following posterior PF ICS was an outcome of SPF activation.

The disruptive effects of the medial and lateral PF ICS on two-way active avoidance are very similar. However, we can point out that medial PF ICS acts mainly on the LTR and slows the acquisition process, and that lateral PF ICS affects both the acquisition and the LTR. Actually, the Lateral-PF group did not show two-way active avoidance acquisition since it did not even show an upward linear tendency. The impairment observed in these two groups could be because the ICS parameters produce paroxysmal discharges or subconvulsive seizure activity. Nevertheless, it does not seem probable since we have noted that it is necessary to raise current intensity over $250 \mu\text{A}$, also with 10 min of PF ICS, to observe signs of pain, seizures, or other abnormal behaviours [16]. Moreover, the same stimulation applied at the posterior PF did not impair learning but it might have even facilitated the conditioning.

The potential detrimental effects of stimulating both PF regions could be mediated by different neurobiological systems. On the one hand, medial PF has been related to the limbic system. It projects to medial and orbital areas of the prefrontal cortex and agranular insular areas, areas that also receive inputs from limbic structures such as the amygdala or

hippocampal formation [4, 43]. These relations can account for the disruptive effects of medial PF ICS. On the other hand, lateral PF is related to the motor circuit since it projects to the motor cortex, to the motor-associated agranular cortex, to striatal areas that have sensory and motor inputs, and lightly to parietal somatic sensory areas [4, 31]. Although in the present experiment there were not differences in locomotor activity between groups, PF ICS has been shown to produce inhibition of locomotion in freely moving rats [26]. Thus, motor relations of the lateral PF could explain the detrimental effects of lateral PF ICS on conditioning.

Finally, considering that the FR crosses the PF, it may be possible that the differential site-specific effects of PF ICS were due to differences in the degree of involvement of the FR by the PF stimulation. Nevertheless, in the present work, none of the subjects included in the PF ICS groups had the electrode affecting the FR. On the other hand, we have analyzed the performance of the rats implanted at the FR ($n=6$) and the results showed that FR ICS induced a more severe impairment of the task than PF ICS at medial and lateral areas. Taking into account this effect, we think that the improvement of two-way active avoidance observed in the Posterior-PF group cannot be attributed to FR ICS. In our opinion, the effects of ICS at the lateral PF can hardly be ascribed to FR stimulation, since the electrodes of the Lateral-PF group were spaced out from the FR. The results are less clear for the medial PF ICS, given that the electrodes in the Medial-PF group, although also located outside the FR, were at a minor distance from it and spreading out of the current towards the FR might have taken place. Nevertheless, learning disruption seems to be more dramatic after FR ICS than after medial PF ICS. Unfortunately, FR ICS results cannot be compared with others because we do not know references evaluating FR ICS effects upon learning and memory.

In summary, the present findings suggest a possible role of the PF in modulatory processes of learning and memory, confirming that this nucleus is functionally heterogeneous. Potential facilitative effects after posterior PF ICS and/or electrode implant could be attributed to the general arousal caused by the stimulation of the intralaminar nuclei or to the activation of the SPF nucleus. Disruptive effects after medial and lateral PF ICS could be a result of PF relations to the limbic system or the motor system. Our results also suggest that an anteroposterior division of the PF could be more appropriate than a mediolateral division, at least for the modulation of learning and memory processes. The present findings do not, however, define exactly the boundaries of the functionally different regions of the PF. New experiments are necessary to clarify these boundaries and to investigate if posterior PF is involved in acquisition or retention processes.

Acknowledgement

This research was supported by a DGICYT grant (PB92-0617), a DGR grant (1994), and a research fellowship from DGU (to A.V.M.; DOGC 10.03.93)

References

- [1] Ahlenius, S., Enhanced suppression of a conditioned avoidance response by haloperidol but not phenoxybenzamine in rats with bilateral parafascicular lesions, *Exp. Brain Res.*, 40 (1980) 164-169.
- [2] Aldes, L.D., Thalamic connectivity of rat somatic cortex, *Brain Res. Bull.*, 20 (1988) 333-348.
- [3] Barth, D.S. and MacDonald, K.D., Thalamic modulation of high frequency oscillating potential in auditory cortex, *Nature*, 383 (1996) 78-81.
- [4] Berendse, H.W. and Groenewegen, H.J., Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat, *Neuroscience*, 42 (1991) 73-102.
- [5] Buser, P., Thalamic influences on EEG, *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 16 (1964) 18-26.
- [6] Cardo, B., Rôle de certains noyaux thalamiques dans l'élaboration et la conservation de divers conditionnements, *Psychol. Franç.*, 10 (1965) 344-351.
- [7] Cardo, B., Effets de la stimulation du noyau parafasciculaire thalamique sur l'acquisition d'un conditionnement d'évitement chez le rat, *Physiol. Behav.*, 2 (1967) 245-248.
- [8] Clavier, R.M. and Gerfen, C.R., Intracranial self-stimulation in the thalamus of the rat, *Brain Res. Bull.*, 8 (1982) 353-358.
- [9] Cornwall, J. and Phillipson, O.T., Afferent projections to the parafascicular thalamic nucleus of the rat, as shown by the retrograde transport of wheat germ agglutinin, *Brain Res. Bull.*, 20 (1988) 139-150.