

AINA LUQUE GARCIA

ESTUDI DELS PATRONS OSCIL·LATORIS DE
L'ESCORÇA PREFRONTAL EN LA GESTIÓ DE
L'ESTRÈS

ESTUDI DELS PATRONS OSCIL·LATORIS DE L'ESCORÇA
PREFRONTAL EN LA GESTIÓ DE L'ESTRÈS

AINA LUQUE GARCIA



Doctorat en Neurociències Bàsiques i Aplicades
Dept. Anatomia i Embriologia Humana
Facultat Medicina i Odontologia
Universitat de València

2016

Aina Luque Garcia: *Estudi dels patrons oscil·latoris de l'escorça prefrontal en la gestió de l'estrès*, © 2016

DIRECCIÓ DE LA TESI:
Dra. Joana Martínez Ricós
Dr. Vicent Teruel Martí

València



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

En Vicent Teruel i Martí i Na Joana Martínez Ricós, doctors en Biologia i Professors del Departament d'Anatomia i Embriologia Humana de la Facultat de Medicina de la Universitat de València

CERTIFIQUEN QUE

Na Aina Garcia Luque, llicenciada en Psicologia per la Universitat de València, ha realitzat sota la seua direcció el treball titulat: Estudi dels patrons oscil·latoris de l'escorça prefrontal medial en la gestió de l'estrès.

Per tal que conste, en compliment de la legislació, signem el present certificat a:

València a 31 de maig de 2016

Dr. Vicent Teruel i Martí

Dra. Joana Martínez i Ricós

Als meus pares

A Ricardo

PRESENTACIÓ

Aquesta memòria recull el treball realitzat per Na Aina Luque i Garcia al Departament d'Anatomia i Embriologia Humana de la Facultat de Medicina de la Universitat de València sota la direcció del Dr. Vicent Teruel i Martí i la Dra. Joana Martínez i Ricós, entre els anys 2011 i 2016.

El primer objectiu d'aquest treball ha estat caracteritzar el patró d'activitat neuronal oscil·latòria de l'escorça prefrontal medial en una situació d'estrès. Per a la qual cosa s'ha estudiat l'activitat poblacional d'aquesta àrea cortical després de portar a terme l'activació del nucli central de l'amígdala. A més, donat que la serotonina està implicada tant en la generació de la resposta d'estrès com en el seu control, hem analitzat el paper que podria jugar el nucli dorsal del rafe en aquest procés.

En segon lloc hem estudiat l'efecte que provoca l'aplicació de l'estimulació cerebral profunda del nucli accumbens en l'activitat elèctrica de l'escorça prefrontal medial, per tractar de comparar-lo amb allò observat en la primera part de la Tesi. L'objectiu d'aquesta segona part és avançar en la comprensió dels mecanismes pels quals aquesta tècnica té efecte terapèutic en malalties psiquiàtriques amb components d'estrès.

En la primera secció de la tesi s'ofereix una Introducció General en la qual exposem els antecedents sobre l'estrès i el circuit neural responsable de la seua gestió, així com les dades més recents presents en la bibliografia sobre estimulació cerebral profunda. A continuació, exposem les Hipòtesis del treball, que es concreten en forma d'Objectius. En la secció de Material i Mètodes describim el disseny de cada experiment, així com les tècniques i anàlisis utilitzats. En la secció de Resultats presentem les dades obtingudes en cadascun dels experiments, i a la de Discussió General es discuteixen de manera conjunta aquests resultats en relació la bibliografia existent en aquesta temàtica. Per finalitzar, s'apunten les Conclusions fonamentals derivades de la Tesi, i es detalla la Bibliografia completa utilitzada per a la preparació dels experiments i la discussió dels resultats.

AGRAÏMENTS

Sens dubte, realitzar aquest treball de Tesi, ha sigut per a mi, el repte professional més intens i important de la meua vida.

Aquests anys m'han suposat un canvi qualitatiu ben diferent des que vaig iniciar la meua formació al Màster de Neurociències, però del que em sent orgullosa i del que crec que m'ha aportat molt, tant a nivell professional com personal.

Cal destacar com aquest procés no hauria pogut ser possible sense l'ajuda i suport dels meus directors, els quals em van donar l'oportunitat de treballar amb ells i als que probablement no podré agrair suficientment tot el que han fet per mi.

Primerament de la meua tutora Joana, de la que he après moltes coses i a la que m'agradaria donar gràcies per l'oportunitat que em va donar de poder treballar amb ella, a més de destacar la seua sinceritat i capacitat de treball, i a la que sempre recordaré amb molta estima.

També al meu tutor Vicent, el qual em pareix una persona extraordinària, al que deuré agrair-li la seua infinita ajuda, comprensió i recolzament. Gràcies.

Com no, vull mencionar a Sergio, el qual ha sigut el meu company durant aquests últims anys, i del que m'agradaria dir que el considere una persona generosa i un bon investigador, i que m'ha ensenyat moltíssim al llarg d'aquest temps.

Altra de les persones que voldria anomenar és Ana Cervera, gràcies també per la teua ajuda. Recorde que amb tu vaig realitzar la meua primera cirurgia.

Com no la meua companya Arantxa, a la que m'agradaria mentar i valorar sincerament el seu recolzament i presència tant a nivell personal com acadèmic. Sempre que necessites alguna cosa pots comptar amb mi.

També anomenar a Eva, encara que la nostra convivència ha sigut més curta també ha sigut un plaer.

Altres membres del departament que també vull anomenar són Alfonso, Paco Soriano, Mònica Tomàs, Rocio, Alida, Lluís, Sara, Luis Aparicio i Tomàs, els quals han format part d'aquesta experiència i m'han fet agradable l'estància al Departament. I al laboratori, Ana i Joan, amb els que he compartit moltes hores de treball.

Destacar també especialment a Amparo Ruiz. Gràcies per creure en mi i per la teua ajuda. Espere que tinga'm un futur prosper en CEC.

Però sobre tot i en un altre pla, aquest treball va dedicat a la meua família Luque i Garcia, començant per un membre molt important, la meua iaia. Gràcies per la teua estima infinita. També als meus tios

i cosins però destacant a mon tio Juanmi, al que li tinc una aprecia especial.

També m'agradaria anomenar a la família Ciscar i Bayarri. Especialment a la meua sogra Ana, a la meua cunyada Anna i el futur Pau, i Júlia. Gràcies per fer-me el dia a dia més fàcil.

Com no als meus amics, i especialment a Vio, Carme, Lucia i Gemma a les que vull agrair la seua presència i els seus consells en tot aquest procés.

De manera molt destacada, anomenar a dues de les persones més importants de la meua vida, els meus pares. Sense el vostre recolzament i estima incondicional, res seria possible.

Per ultim al meu company, la persona que sempre està ahí, Ricardo. Gràcies per escoltar-me, recolzar-me, estimar-me... i molt més.

ÍNDIX

1	INTRODUCCIÓ	1
1.1	L'estrès	1
1.1.1	La importància d'estudiar l'estrès	1
1.1.2	Què és l'estrès?	2
1.1.3	Control de la resposta d'estrès	3
1.1.4	Quina és la conducta més òptima front a un estressor?	4
1.1.5	La malaltia mental com a conducta no adaptativa	6
1.1.6	Alteracions funcionals	7
1.1.7	Alteracions estructurals	8
1.2	Anatomia de l'estrès	8
1.2.1	Complex amigdalí	9
1.2.2	Els nuclis del rafe	14
1.2.3	La serotonina i els seus receptors	16
1.2.4	Influència de la CRH sobre l'alliberament de 5-HT des de RD	17
1.2.5	Escorça prefrontal	17
1.3	Interacció CeA-RD-EPFm/IL en resposta a un estressor	20
1.3.1	CeA i RD en resposta a l'estrès	20
1.3.2	RD i EPFm en la resposta a l'estrès	21
1.4	Oscil·lacions cerebrals	23
1.4.1	Què són les oscil·lacions cerebrals	23
1.4.2	Funcions de les oscil·lacions cerebrals	24
1.4.3	Alteracions oscil·latòries en la patologia	26
1.5	Estimulació cerebral profunda	26
1.5.1	Què és l'estimulació cerebral profunda	27
1.5.2	El nucli accumbens com a diana de l'ECP	28
1.5.3	El nucli accumbens i l'estrès	31
1.5.4	Mecanismes d'acció de l'estimulació cerebral profunda	31
1.5.5	L'estimulació cerebral profunda com a regulador del circuit	32
2	HIPÒTESIS I OBJECTIUS	35
3	MATERIAL I MÈTODES	37
3.1	Aspectes generals	37
3.2	Animals experimentals	37
3.3	Cirurgia	37
3.4	Mètodes de l'electrofisiologia	39
3.4.1	Registre de l'activitat del potencial de camp	39
3.4.2	Estimulació elèctrica de CeA	40

3.4.3	Estimulació cerebral profunda	40
3.5	Perfusió i processat del cervell	40
3.5.1	Perfusió	40
3.5.2	Microtomia	41
3.5.3	Tinció histològica	41
3.5.4	Visualització de la col·locació d'elèctrodes	41
3.6	Disseny experimental	41
3.6.1	Experiment 1: estudi de l'efecte de l'estimulació elèctrica de CeA sobre l'activitat oscil·ladora de l'escorça infralímbica. (n = 11)	41
3.6.2	Experiment 2: estudi del paper del nucli dorsal del rafe als canvis originats al patró oscil·latori d'IL per l'activació de CeA. (n = 6)	43
3.6.3	Experiment 3: Estudi dels efectes de l'aplicació de l'estimulació cerebral profunda al <i>core</i> del nucli accumbens sobre l'activitat oscil·ladora d'IL. (n = 6)	45
3.7	Anàlisi de dades	46
3.7.1	Anàlisi de senyals	46
3.7.2	Anàlisi de Fourier	46
3.7.3	Anàlisi wavelet	47
3.7.4	Acoblament amplitud-fase	47
3.7.5	Anàlisi estadística	48
4	RESULTATS	49
4.1	Aspectes generals	49
4.2	Activitat basal en condicions d'anestèsia	50
4.3	Estimulació de CeA	50
4.3.1	Detecció del patró oscil·latori d'ona lenta	52
4.3.2	L'oscil·lació lenta es manté amb una estructura temporal particular	55
4.3.3	L'estat SW conté acoblades ones més ràpides	59
4.4	Implicació del nucli dorsal del rafe	63
4.5	ECP del nucli accumbens	70
5	DISCUSSIÓ	73
5.1	Estimulació de CeA	74
5.2	Ones lentes a IL	74
5.2.1	El patró oscil·latori observat a IL podria representar un substrat funcional relacionat amb la modulació de la resposta d'estrès	74
5.2.2	La SW podria estar en la base de la consolidació d'informació amb contingut emocional	81
5.3	La SW registrada a IL podria dependre de 5-HT	83
5.3.1	L'estimulació de CeA induïx un augment del flux de 5-HT des de RD sobre EPFm	83
5.3.2	La generació de l'oscil·lació requereix de l'activitat de RD	83

5.3.3	L'activitat lenta a IL és atribuïble a un increment en el flux serotoninèrgic des de RD	85
5.4	Estimulació cerebral profunda d'Acb	86
5.5	Predominança de SW amb l'ECP	87
5.6	Interpretació de l'ECP	87
5.6.1	Relació amb la gestió de l'estrès	87
5.6.2	Relació amb la consolidació d'aprenentatge i memòria	89
5.7	Increment de 5-HT per ECP	91
5.8	Mecanismes de l'ECP sobre IL	92

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1	Respostes desadaptatives d'estrès	5
Figura 2	Anatomia de l'amígdala	10
Figura 3	Connexions de l'escorça prefrontal medial	13
Figura 4	Els nuclis serotoninèrgics	14
Figura 5	Homologies de l'escorça prefrontal medial	19
Figura 6	Resposta a l'estrès a través d'amígdala	21
Figura 7	Sincronització poblacional	24
Figura 8	Oscil·lacions cerebrals	25
Figura 9	Neuroestimulació cerebral	27
Figura 10	Circuits dels nuclis de la base	28
Figura 11	Connexions dels nuclis de la base	30
Figura 12	Localització dels elèctrodes d'estimulació elèctrica de CeA	42
Figura 13	Localització dels elèctrodes a l'Experiment 1	43
Figura 14	Localització dels elèctrodes a l'Experiment 2	44
Figura 15	Localització dels elèctrodes a l'Experiment 3	45
Figura 16	Anàlisi espectral	47
Figura 17	Senyals LFP en IL	51
Figura 18	Anàlisi dels LFP en IL	52
Figura 19	Ratio SW amb estimulació de CeA	54
Figura 20	Càlcul del retard de les SW	55
Figura 21	Espectrogrames wavelet dels LFP amb estimulació de CeA	57
Figura 22	Anàlisi temps-freqüència del grup experimental d'estimulació de CeA	58
Figura 23	Anàlisi de la ritmicitat de les SW	60
Figura 24	Anàlisi de la distribució d'amplituds	61
Figura 25	Detecció de ones theta	62
Figura 26	Evolució temporal de les oscil·lacions SW, theta i beta	64
Figura 27	Detecció d' <i>spindles</i>	65
Figura 28	Efecte de la inhibició temporal del DR sobre la ona SW	67
Figura 29	Anàlisi estadístic de l'efecte del muscimol sobre l'estat SW	68
Figura 30	Evolució temporal de les potències per a les bandes SW, theta i beta	69
Figura 31	Senyals LFP d'IL derivats de l'ECP sobre l'Acb	70
Figura 32	Evolució temporal de la ratio SW amb l'ECP	71
Figura 33	Evolució temporal de les potències a les bandes de freqüència SW, theta i beta, amb ECP	72

Figura 34	Dispositiu per sotmetre una rata a un procés d'immobilització.	75
Figura 35	Esquema dels resultats de Forster <i>et al.</i> (2006)	76
Figura 36	Projeccions implicades en la regulació de la resposta d'estrès	78
Figura 37	Circuit proposat com a substrat de l'alliberament de 5-HT	84
Figura 38	Mecanisme d'acció pel qual l'ECP de l'Acb-Co	93

ÍNDIX DE TAULES

Taula 1	Coordenades extereotàxiques d'acord amb el atlas de Paxinos i Watson (1998)	38
---------	---	----

ACRÒNIMS

AC	Àrea cingulada anterior
Acb	Nucli accumbens
AcbSh	Nucli accumbens Shell
AcbCo	Nucli accumbens Core
ACTH	Hormona adenocorticotropa
Ad	Adrenalina
AGm	Escorça agranular medial
AMI	Amígdala
ATV	Àrea tegmental ventral
BLA	Amígdala basolateral
CeA	Amígdala central
CeL	Amígdala central Lateral
CeM	Amígdala central Medial
CRH	Hormona alliberadora de corticotropina
DA	Dopamina
DDM	Desordre de Depressió Major
ECP	Estimulació cerebral profunda
EPF	Escorça prefrontal
GABA	àcido γ -aminobutíric
Glu	Glutamat
Gs	glucocorticoides
HHA	Eix hipotàlem-hipofisari-adrenal
HPC	Hipocamp
IL	Escorça Infralímbica
ITC	Cèl·lules intercalades de l'amígdala
ITM	Neurones intercalades principals

ITPC	Neurones intercalades paracapsulars
LFP	Local Field Potencial
MeA	Amígdala medial
Ms	Mineralcorticoides
NAd	Noradrenalina
NE	Norepinefrina
NET	Nucli de jaç de l'estria terminal
NPV	Nucli paraventricular de l'hipotàlem
NST	Nucli subtàlamic
PAG	Substància gris periaqüeductal
PL	Escorça Prelímbica
RD	Rafe dorsal
RM	Rafe Medial
SN	Substància negra
SNC	Sistema nerviós central
SW	Ones lentes
TOC	Trastorn obsessiu compulsiu

INTRODUCCIÓ

1.1 L'ESTRÈS

1.1.1 *La importància d'estudiar l'estrès*

El terme estrès s'utilitza en la vida diària per a referir-se a aquelles situacions que demanden més del que l'individu pot abastar, provocant sentiments d'ansietat i frustració. Poden donar-se tant en el context laboral, social com familiar. En ocasions es tracta de situacions que representen un repte o desafiament, altres es tracta de circumstàncies que percebem com una amenaça o un perill. Poden originar-se per inseguretats econòmiques, mala salut, exposició a tòxics o sorolls, conflictes interpersonalment. Altres vegades, encara que amb menys freqüència, sorgeixen situacions que són potencialment mortals, com accidents, desastres naturals o violència. En qualsevol cas, l'estrès fa referència a situacions que exigeixen la nostra atenció i recursos i que ens situen en estats d'activació i vigilància.

Les experiències estressants tenen una influència rellevant sobre el comportament dels individus. Per exemple, estar estressat pot causar estats d'ansietat i depressió, insomni, pèrdua de l'apetit o consum de drogues (McEwen, 2016). Dècades d'investigació han demostrat que existeix una relació molt estreta entre l'exposició a l'estrès i la manifestació d'estats patològics (McEwen, 1998). Per exemple, l'estrès és un factor de risc fonamental en el desenvolupament de malalties com ara les cardiovasculars (Black i Garbutt, 2002), la diabetis i altres desordres metabòlics (Cohen i Tong, 2010), així com malalties inflamàtores (Elenkov i Chrousos, 2002), totes elles amb alta prevalença. També s'ha comprovat que l'exposició a estrès afavoreix la progressió de patologies neurodegeneratives com l'Alzheimer (Jeong *et al.*, 2006) i també l'avanç de la malaltia de Parkinson (Macht *et al.*, 2005).

A més a més, l'estrès també incrementa la probabilitat de patir patologies mentals. L'exposició a condicions estressants comporta el desenvolupament d'estats de por i ansietat, que en ser excessives poden interferir en la vida normal (Lucassen *et al.*, 2014). De fet, l'estrès és un factor de risc per a desenvolupar trastorns mentals comuns, com és el cas del Desordre de Depressió Major (DDM; Bogdan i Pizzagalli, 2006; Slavich i Irwin, 2014) la síndrome d'ansietat generalitzada, les fòbies, el desordre de pànic (Lenze *et al.*, 2000) i l'estrès post-traumàtic (Pace i Heim, 2011, Yehuda *et al.*, 2009). També consisteix en un dels elements clau en l'adquisició d'addicions (Koob *et al.*, 2014): l'estrès afavoreix l'establiment de comportaments impulsius, (Kreek

et al., 2005) i també la perseverança en conductes compulsives (Koob, 2013), ambdós trets fonamentals en la consolidació de les conductes de consum de drogues. A més a més, altres malalties amb components de compulsió, com és el trastorn obsessiu compulsiu (Murphy *et al.*, 2013), també tenen una forta component d'estrès.

És important destacar que els desordres d'ansietat tenen una altíssima prevalença. De fet ja són els més comuns dels desordres mentals en adults (Lenze, 2011). The *World Health Organization* determina que les malalties mentals, incloent els desordres relacionats amb l'estrès, seran la segona causa de discapacitat a l'any 2020. Aquest pronòstic pot dur a conseqüències socials i econòmiques transcendents (Murray i Lopez, 1996). És per això que l'estudi de les interaccions entre estrès i malaltia mental és de gran interès per a la ciència pel que fa a l'enteniement dels factors fisiològics, genètics i exponencials que interactuen amb l'exposició als estressors (Alleva i Francia, 2009; Jovanovic i Ressler, 2010; Mehta i Binder, 2012; Parker i Maestripieri, 2011).

El cervell és l'òrgan que decideix quines experiències són estressants i que determina les respostes fisiològiques i de comportament adients (McEwen, 2016). Per tant, per comprendre com és la generació i control de les respostes d'estrès, i per tant, també la susceptibilitat a la malaltia, caldrà estudiar els circuits neuronals implicats. Aquest és l'objectiu general d'aquesta tesi.

En primer lloc comencem en aquesta Introducció per explicar el fenomen de l'estrès en termes biològics, i les estructures neuronals implicades en la seua gestió.

1.1.2 Què és l'estrès?

L'estrès és un concepte multidimensional que pot ser descrit des de múltiples punts de vista. Des d'una perspectiva fisiològica, pot ser entès com la resposta que genera un individu quan percep un estímul potencialment perjudicial (estressor). Consisteix en l'activació de manera coordinada d'un conjunt ampli de sistemes i processos amb la intenció de preservar la integritat (MC Ewen *et al.*, 2000; Ulrich-Lai i Herman, 2009; Lucassen *et al.*, 2014).

La resposta d'estrès sol expressar-se en dues fases. Una primera, ràpida, que es caracteritza per un alliberament d'adrenalina (Ad) i noradrenalina (NAd) per part del sistema nerviós autònom simpàtic i el *locus coeruleus*, i un augment del flux sanguini al cor i als músculs, acompanyat d'una major taxa metabòlica, pressió arterial i ritme respiratori (Tsigos i Chrousos, 2002; Ulrich-Lai i Herman, 2009; Lucassen, 2013). Aquesta mobilització d'energia permet iniciar la resposta que en termes anglesos es coneix com "*flight-fight-or-fright*", és a dir, fugir, enfrontar-se o quedar-se immòbil amb l'objectiu de ser menys visibles (Kupriyanov i Zhdanov, 2014; Lucassen *et al.*, 2014), caracteritzada per primera vegada per Walter Cannon i col·laboradors a principis del

s.XX (Cannon, 1929). La resposta *flight-fright-or-fright* fa referència a les diferents estratègies bàsiques que podria manifestar un individu en cas d'enfrontament amb un altre individu. Posteriorment, s'activa el sistema neuroendocrí i l'eix hipotàlem-hipofisari-adrenal (HHA; Pacak i Palkovits, 2001), integrat per tres estructures bàsiques: l'hipotàlem, la hipòfisi i les glàndules suprarenals (Jankord i Herman *et al.*, 2008; Rodriguez-Fernandez *et al.*, 2013; Lucassen, 2013; Kupriyanov i Zhdanov, 2014). En primer lloc, en activar-se el nucli paraventricular de l'hipotàlem (NPV), alliberarà CRH (hormona alliberadora de corticotropina), que farà que la hipòfisi anterior sintetitzi la hormona adenocorticotropa (ACTH), que a través del torrent sanguini arribarà fins les glàndules suprarenals des de les quals s'alliberaran glucocorticoides (Gs; corticosterona en rosegadors, cortisol en humans) i mineralcorticoides (Ms; Mello *et al.*, 2003; Jankord i Herman, 2008; Ulrich-Lai i Herman, 2009; Lucassen *et al.*, 2014). Convé destacar que també s'activaran altres vies en coordinació amb l'eix HHA com ara l'eix gonadal, adipós i el sistema immunitari. En conjunt, aquesta activació col·laborarà en dirigir l'atenció i els recursos energètics cap a l'afrontament del repte que es presenta, i es suspendran de manera temporal aquelles funcions menys urgents, com ara la ingesta, la digestió i la reproducció (Joëls *et al.*, 2012).

1.1.3 Control de la resposta d'estrès

L'activació dels mecanismes d'estrès és una resposta natural i adaptativa, però pot tenir conseqüències deletèries per a l'individu sinó està sotmesa a un control rigorós. D'una banda l'exposició prolongada a glucocorticoides pot comportar disfuncions metabòliques, immunitàries, reproductives i psicològiques (Sapolsky, 1996; Jankord i Herman, 2008). Per tant, el seu alliberament s'ha de donar amb una intensitat i durada regulades que no comprometa la supervivència de l'individu (Jankord i Herman *et al.*, 2008; Ulrich-Lai i Herman, 2009; Lucassen *et al.*, 2014). Amb aquesta finalitat, existeix un mecanisme de regulació que es basa en un procés de feedback negatiu (retroalimentació que actua de manera contrària a la resposta inicial), per tal de mantenir els nivells de glucocorticoides i mineralocorticoides dins els paràmetres saludables (Ulrich-Lai i Herman, 2009; Herman *et al.*, 2012).

Aquest procés consta d'una primera etapa ràpida, basada en la sensibilitat del sistema al ritme de segregació dels Gs i Ms: els receptors de membrana a les neurones del NPV, detecten els nivells de secreció inhibint la secreció de CRH i vassopresina (Herman *et al.*, 2003, 2012; Ulrich-Lai i Herman, 2009; Lucassen *et al.*, 2014). En segon lloc, s'activa una segona via, anomenada via genòmica, en resposta als nivells de Gs i Ms en sang. Aquesta ruta, d'efecte més tardà, es basa en que la unió dels Gs i Ms als seus receptors genera una regulació de l'expressió gènica de la cèl·lula per interacció amb factors de trans-

cripció (Herman *et al.*, 2005; Ulrich-Lai i Herman, 2009). A banda de la clara importància dels propis Gs i Ms en la retroinhibició, és important destacar que l'eix HHA també és modulable mitjançant vies GABAèrgiques originades en altres estructures cerebrals i de manera independent als nivells d'aquests (Herman *et al.*, 2005).

En segon lloc, perquè la pauta generada front a un estressor siga efectivament saludable i adaptativa també resulta fonamental escollir l'estratègia comportamental més adient. La idoneïtat de la resposta pot dependre de les característiques particulars de l'estressor, així com el context concret en què aquest es presente. També és crític perquè la resposta no siga perjudicial per a l'individu, que es controle la durada de la resposta manifestada, i per tant finalitzar-la quan l'estressor ja no estiga present. A més a més, com que vivim en un entorn canviant, l'efectivitat de cada estratègia pot variar amb el temps i/o les circumstàncies. Per això, també s'ha de poder actualitzar el valor o efectivitat de cada estratègia en el temps, per poder facilitar la inhibició i/o el canvi quan fora necessari (Ragozzino *et al.*, 1999; Logue i Gould, 2014).

En aquest sentit, a banda de l'activació hipotalàmica, la presència d'un estressor va acompanyada de la d'estructures límbiques com ara l'amígdala, l'hipocamp, els nuclis del rafe i l'escorça prefrontal, entre d'altres. Aquestes estructures participaran conjuntament en la coordinació dels inputs emocionals, cognitius, neuroendocrins i autonòmics. Així, en conjunt, es determinarà la magnitud i especificitat de les respostes individuals a nivell comportamental, neural i hormonal (Herman *et al.*, 2005; figura 1).

1.1.4 Quina és la conducta més òptima front a un estressor?

Hi ha molts factors que influeixen en determinar quina és l'estratègia més òptima front a cada estressor. D'una banda, no serà el mateix enfrontar-se a una amenaça de baixa magnitud que a un perill més sever (Koolhaas *et al.*, 2011). A més a més, els estressors poden presentar-se amb diferents freqüències. Poden manifestar-se de manera aguda, i per tant ser impredecibles; o aparèixer reiteradament i per tant ser predictibles, de manera que la seua presència pugua anticipada. És a dir, l'exposició repetida pot permetre un aprenentatge que modifique les estratègies d'afrontament en el futur. Per tant, la resposta que es genera cap a un estressor pot ser dependent d'experiències prèvies i del context específic (Jankord i Herman, 2008). A més a més, és fonamental valorar a cada moment els recursos individuals dels què disposen i preveure quina despesa pot suposar per a l'organisme cada resposta possible (Austenfeld i Stanton, 2004).

Un dels factors clau a l'hora de generar una estratègia òptima és la correcta valoració de les condicions objectives de l'amenaça, en particular la percepció que té de l'individu sobre el grau de control

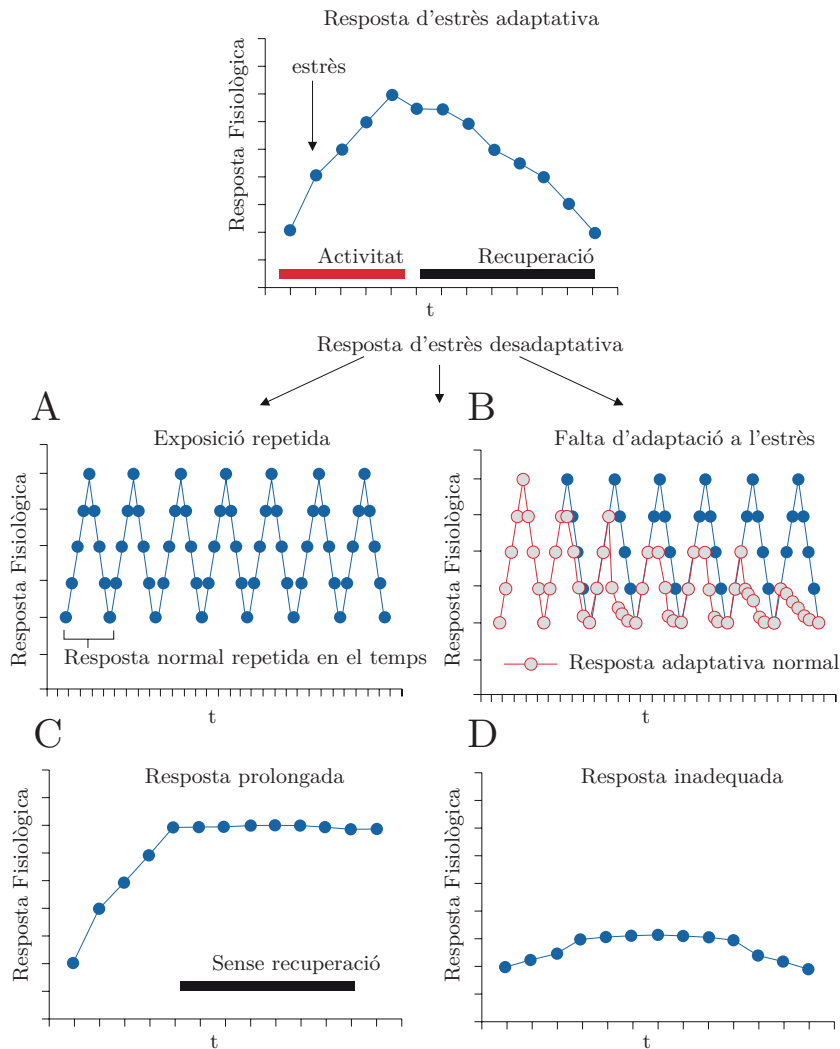


Figura 1: Exemples de respostes desadaptatives d'estrès. Dalt: resposta adaptativa: s'inicia, es manté durant un període de temps i després finalitza. A: Resposta repetida front a l'estressor B: Falta d'adaptació a un estímul estressant (blau), adaptació a l'estímul estressant (roig) C: Resposta prolongada sense recuperació D: Resposta atenuada. Adaptat de McEwen, 1998

que té sobre l'estressor (Amat *et al.*, 2008). Depenent de si es percep l'estímul com a controlable o com a incontrolable se'n generarà la resposta d'afrontament apropiada (Maier i Watkins, 2005).

En termes generals, aquesta estratègia pot ser d'afrontament (resposta activa), o pel contrari l'absència d'aquesta (resposta passiva). En situacions d'estrès controlable, es promou la generació de respostes d'afrontament actiu, amb l'objectiu d'eliminar la font d'estrès. En canvi, davant d'esdeveniments estressants que es consideren inevitables o incontrolables, es generen respostes d'afrontament passiu (Steimer, 2002). L'afrontament passiu, resulta adaptatiu quan un subjecte no pot fer front a l'estressor, i per tant la generació d'una resposta activa generaria un malbaratament dels recursos (Austenfeld i Stanton, 2004; Nes i Segerstom, 2008).

És a dir, tant la resposta d'afrontament actiu com passiu són igualment adaptatives. La clau és generar una resposta a l'estrès contingent i òptima a la situació i als recursos disponibles, i finalitzar-la quan siga el moment (Austenfeld i Stanton, 2004; Nes i Segerstom, 2008).

1.1.5 *La malaltia mental com a conducta no adaptativa*

La resposta d'estrès pot esdevindre patològica. És a dir, en resposta a un estressor podem generar respostes inadequades que per tant no siguen efectives i que fins i tot tinguen conseqüències perjudicials. Una de les causes pot ser, per exemple, una percepció inadequada de la controlabilitat/incontrolabilitat de l'estressor (Foa *et al.*, 1992) i per tant la generació errònia de conductes passives o actives. De fet, moltes malalties psiquiàtriques poden ser enteses com alteracions en la interpretació de l'estímul estressant o bé de les capacitats individuals d'afrontament. Un cas freqüent que explica aquesta alteració és la consideració com a incontrolable d'un estressor que en realitat és controlable i per tant se'n generarà una resposta passiva, quan la més òptima seria l'activa. És el cas, per exemple, de la depressió (Matheson i Anisman, 2003). En els pacients deprimits es descriu la percepció de sentiments d'incapacitat per fer front al factor estressant (Miller *et al.*, 1979) i fins i tot dèficits en la realització d'activitat motriu requerida (Anisman, 1978; Weis, 1975). La depressió s'associa amb estils d'afrontament passius i amb un component greu d'emoció negativa (Matheson i Anisman, 2003) així com d'una reflexió exagerada sobre l'estímul problema (Nolen-Hoeksema, 1998). Aquest fenomen que implica valorar erròniament l'estímul i de generar-ne en conseqüència una resposta passiva inadequada pot observar-se a altres patologies. Per exemple, s'ha descrit que els individus amb trastorn obsessiu compulsiu (TOC) tendeixen a considerar com potencialment contaminants algunes situacions diàries i en conseqüència les eviten (De silva i Rachman, 2004). També és comú que pacients amb desordre d'estrès

posttraumàtic tracten d'evitar tota aquella experiència que consideren que podria generar-los memòries intrusives (Brewin i Holmes, 2003; Williams i Moulds, 2007). De manera similar, les persones amb fòbia social rebutgen de manera sistemàtica acudir a esdeveniments multitudinaris (Bögels *et al.*, 2010).

Com detallarem més endavant, en el nostre treball estudiem la interacció entre les estructures cerebrals encarregades de generar una resposta passiva i aquelles responsables de finalitzar-la. La comprensió dels mecanismes pels quals es dona aquesta funció de manera fisiològica pot contribuir a la comprensió també dels dèficits observats en la patologia.

1.1.6 Alteracions funcionals

Les alteracions comportamentals que s'observen en les patologies mentals poden relacionar-se en molts casos amb alteracions funcionals. En particular, podem trobar alteracions de l'eix hipotàlem-hipofisari-adrenal, la qual cosa corrobora que hi ha una relació entre l'alteració dels mecanismes de l'estrès i la patologia psiquiàtrica. En persones amb trastorns depressius, esquizofrènia, obsessió-compulsió i addiccions, l'eix HHA es troba alterat, detectant nivells anormals de CRH i cortisol (Guilliams i Edwards, 2010). Aquesta alteració també s'ha observat en víctimes suïcides (Arató *et al.*, 1989). L'eix HHA també es veu alterat pel que fa a la secreció de glucocorticoides, que es troben en nivells anormals tant en sang com en estructures cerebrals com l'escorça prefrontal medial en malalts psiquiàtrics (Lucassen *et al.*, 2014).

És habitual en malalts amb patologies mentals detectar nivells de serotonina alterats (Christiansen *et al.*, 2007). Com s'explicarà més endavant el sistema serotoninèrgic, amb el rafe dorsal com a nucli clau, participa de la gestió de la resposta d'estrès (Hale *et al.*, 2013) i, per tant, també és un dels sistemes alterats en malalties amb aquesta component. L'exposició a estrès crònic disminueix els nivells d'excitabilitat del nucli del rafe dorsal, que es tradueix en nivells basals de serotonina més baixos. Aquest fenomen es detecta en pacients amb nivells d'ansietat elevats (Lemos *et al.*, 2011) i en individus amb trastorn d'estrès posttraumàtic (Diaz-Marsa, 2000). També s'han descrit nivells baixos de serotonina en el líquid cefaloraquídi de pacients depressius i en el teixit cerebral de víctimes suïcides (Van Praag, 1984). A més, els nivells de serotonina resulten alterats pel consum d'alcohol, psicoestimulants i opioïdes (Kirby *et al.*, 2011). És molt rellevant la relació que existeix entre les variacions de 5-HT i CRH en patologies relacionades amb estrès. En pacients depressius s'ha demostrat que l'alteració serotoninèrgica es pot donar per alts nivells de CRH (De bellis *et al.*, 1993; Austin *et al.*, 2003). És per això que com a tractament per a aquest tipus de trastorns, s'utilitza tant els inhibidors selectius

de la recaptació de la 5-HT com substàncies que modulen la quantitat de CRH. De fet, s'ha vist que el tractament amb inhibidors selectius de la recaptació de serotonina pot arribar a normalitzar els nivells de CRH (Fournier *et al.*, 2010; Gibbons *et al.*, 2012).

1.1.7 Alteracions estructurals

En subjectes amb trastorns psiquiàtrics s'observen alteracions anatòmiques en estructures que també formen part del circuit de l'estrès. En moltes patologies mentals s'observa hipertrofia adrenal, que incrementa el to basal de l'eix HHA, i una atrofia del tim (Jankord i Herman *et al.*, 2008; Kloet, 2013). La depressió es relaciona amb la disminució del volum de l'hipocamp (Kempton *et al.*, 2011) que, curiosament, es recupera amb el tractament amb antidepressius (Schermyly *et al.*, 2011).

També s'han observat modificacions estructurals a l'amígdala en relació a la depressió major (Drevets *et al.*, 2008). Per exemple, s'ha vist que l'estrès crònic genera a l'amígdala una major arborització dendrítica, així com un augment en el nombre i grandària dels seus botons sinàptics (Vyas *et al.*, 2002).

També s'ha observat que l'exposició repetida a experiències estressants resulta en una atrofia de l'EPFm i de l'estriat dorsomedial (Dias-Ferreira *et al.*, 2009). En concret, s'han descrit canvis en la plasticitat de les neurones piramidals de l'escorça que consisteixen en una reducció de les seues dendrites, de la seua ramificació i densitat (Cerqueira *et al.*, 2008; Czéh *et al.*, 2008; Radley i Morrison, 2005). En canvi, les interneurons GABAèrgiques d'aquesta regió mostren una reorganització amb unes dendrites hipertròfiques (Gilabert-Juan *et al.*, 2013). A més a més, l'exposició a estrès crònic no només té repercussions a nivell neuronal, sinó que també afecta a les cèl·lules glials. Concretament EPF s'observa una inhibició de la regeneració glial en general (Czéh *et al.*, 2007), i es detecta una reducció morfològica dels astròcits (Tynan *et al.*, 2013).

Resulta interessant que tant els canvis funcionals com estructurals poden manifestar-se com a conseqüència de l'estrès però també acabar representant el substrat pel qual es mantinguen respostes no adaptatives o patològiques (Arnsten, 2009).

1.2 ANATOMIA DE L'ESTRÈS

Com ha quedat palès, la generació i regulació de la resposta d'estrès és un fenomen complex i la seua malfuncionament pot representar el substrat de malalties psiquiàtriques. En la gestió de l'estrès intervé una xarxa àmplia d'estructures, de les quals nosaltres ens centrarem en l'estudi de 3 de les més importants: l'amígdala, l'escorça prefrontal medial i el nucli dorsal del rafe.

L'amígdala té un paper crític en l'avaluació emocional dels estímuls, i en originar les respostes endocrines i comportamentals conseqüents (Rogan i LeDoux, 1996; Pitkänen *et al.*, 1997). Com hem comentat, la correcta avaluació del valor d'un possible estressor és clau per generar-ne la resposta correcta, i d'ahí la importància de l'amígdala en la gestió de la resposta d'estrès. Per la seua banda, l'escorça prefrontal medial és la part de l'encèfal encarregada de funcions executives, com la presa de decisions i el control cognitiu (Gläscher *et al.*, 2012). Com a part d'aquestes funcions, intervé en el control de l'estrès (Cullinan *et al.*, 1995, Dayas *et al.*, 2001, Herman i Cullinan, 1997, Li i Sawchenko, 1998), en part modulada la reactivitat de l'amígdala (Ho *et al.*, 2012). A més, té un paper fonamental en l'elecció de l'estratègia front a cada estimul (Maier i Watking, 2010).

Per últim, els nuclis del rafe i en especial, el nucli dorsal (Carrasco i Van de Kar, 2003; Graeff *et al.*, 1996), es connecta recíprocament amb l'amígdala i l'escorça prefrontal medial (Waselus *et al.*, 2011). Aquest nucli està implicat en l'expressió de comportaments afectius normals (Jacobs *et al.*, 1978; Lucki, 1998; Simansky, 1996; Vertes, 1988) però també en l'expressió de desordres psiquiàtrics diversos (Waselus *et al.*, 2011) i també en patologies mentals relacionades amb l'estrès (Carrasco i Van de Kar, 2003; Graeff *et al.*, 1996; Waselus *et al.*, 2011).

1.2.1 *Complex amigdali*

L'amígdala va ser descrita per primera vegada a la part medial del lòbul temporal a principis del segle XIX. El seu nom, que deriva del Grec, fa referència a la seua aparença similar a la d'una ametlla. Malgrat ser una regió molt antiga filogenèticament, es conserva en el cervell de tots els vertebrats que presenten funcions i circuits amigdalins similars (Lanuza *et al.*, 1999; Martinez-Garcia *et al.*, 2008; Janak i Tye, 2015).

L'amígdala està composta per diferents àrees i s'hi distingeixen diferents subsistemes (Swanson i Petrovich, 1998) que es classifiquen i organitzen de maneres diferents segons el criteri utilitzat (Lanuza *et al.*, 1999; Ledoux, 2000; Medina *et al.*, 2011). Una de les organitzacions més acceptades és que l'amígdala consisteix de 3 regions alhora compostes per nuclis. Una de les regions és la divisió corticomedial, un grup associat al sistema olfatiu i que es considera filogenèticament més antic. Engloba els nuclis medial, cortical i tracte olfatiu lateral. L'altra divisió seria el nucli central, molt relacionat amb el tronc de l'encèfal. I per últim, el complex basolateral, que interactua estretament amb el neocòrtex, i que al seu torn inclou els nuclis lateral i basolateral (Lanuza *et al.*, 1999; Medina *et al.*, 2011; figura I2).

L'amígdala està implicada en un gran nombre de funcions, però per la que més destaca és la detecció d'esdeveniments emocionals, tant endògens com exògens, i la producció de les respostes apropiades

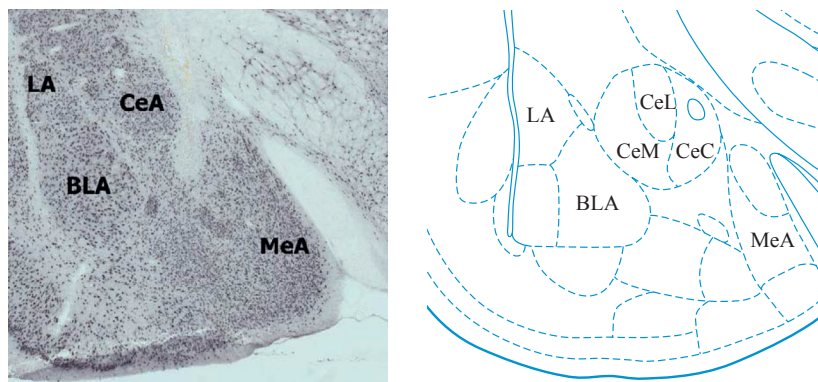


Figura 2: Anatomia de l'amígdala. Esquerra: Imatge de immunohistoquímica NeuN de l'amígdala. MeA: Amígdala medial, CeA: amígdala central, LA: amígdala lateral, BLA: amígdala basolateral. Adaptat de Masini et al., 2009. Dreta: imatge de l'amígdala estreta de l'atles de Paxinos i Watson (2004) corresponent a l'altra imatge, al nivell anteroposterior respecte de bregma -2.5 mm.

per a cadascun d'ells (Rogan i Ledoux, 1996; Pitkänen *et al.*, 1997). D'entre les seues subdivisions, les àrees més implicades en aquestes funcions són el complex basolateral i el nucli central, així com les connexions entre ells (Ledoux, 2000).

1.2.1.1 Amígdala Basolateral

El nucli basolateral de l'amígdala (BLA), és la part de major extensió del complex amigdali (Ledoux, 2000). És considerada la principal entrada d'informació a l'amígdala ja que hi arriba informació sensorial multimodal: visual, auditiva, somatosensorial (incloent dolor), olfactiva i gustativa; i tant des del tàlem com des de l'escorça (Pitkänen, 2000; Ledoux, 2000). Per això és una divisió clau per a la integració sensorial (Ledoux, 1993; Aggleton i Young, 2000).

Gràcies a questa capacitat d'integració BLA té un paper fonamental en atorgar significat emocional de claus ambientals rellevants (Ledoux, 2000). De fet, en BLA es codifica el valor reforçant dels estímuls (Baxter i Murray, 2002; Sugase-Miyamoto i Richmond, 2005; Cole *et al.*, 2013) i també es detecta el grau de perillositat de possibles amenaces (Adhikari, 2014).

A més a més, BLA representa el substrat fonamental per a l'adquisició i l'extinció d'aprenentatges condicionats (Ledoux, 2000; Akirav *et al.*, 2006), entre d'altres, aquells associats a estímuls aversius, com és la por condicionada (Myers i Davis, 2007; Herry *et al.*, 2010; Amano *et al.*, 2011). Així, la seua activitat és necessària per al condicionament

de por (*fear conditioning*) mecanisme pel qual estímuls neutres o condicionats, són associats a d'altres amb un valor biològic intrínsec (en aquest cas negatiu) de manera que adquireixen les mateixes propietats afectives que aquest i, per tant, generaran la mateixa resposta. Alguns exemples de respostes que poden ser condicionades són els comportaments defensius (com el *freezing*), autònoms (com la taxa cardíaca o la pressió sanguínia) o respostes endocrines (alliberament d'hormones) entre d'altres (Ledoux, 2000).

BLA té una paper clau en la generació de comportaments en resposta a estímuls emocionals a través de les seues eferències (Davis, 1992; Tye *et al.*, 2011). Conté diferents tipus de neurones principals i interneurons, però principalment està composta per neurones glutamatèrgiques de projecció (McDonald, 1998; Swanson i Petrovich, 1998). Està fortament connectada amb l'escorça prefrontal (Vertes, 2004) i l'hipocamp (Pitkänen, 2000; Hoover i Vertes, 2007), projeccions molt importants en el control, expressió i extinció de la por condicionada (Roosendaal *et al.*, 2003, 2004, 2009).

A més, BLA també regula directament l'eix HHA, (Ulrich-lai i Herman, 2009), i pot influir, sobre el comportament via eferències sobre l'estriat ventral i el sistema dopaminèrgic mesolímbic (Robbins i Everitt, 1996; Cardinal *et al.*, 2002). Aquestes connexions són molt importants en la manifestació de conductes passives o actives front a estressors (Puglisi-Allegra i Andolina, 2015).

Per últim, són de destacar les fortes connexions amb altres àrees del complex amigdalí. D'una banda, BLA projecta sobre CeA (Ledoux, 2000) que, com descriurem a continuació, representa el principal output amigdalí en la manifestació de conductes d'estrès i por. A més, BLA també manté connexions recíproques amb les ITC (Marowsky *et al.*, 2005), que, com es detallarà més endavant, representen una via de modulació de l'activitat amigdalina (figures 12 i 3). Per tant BLA constitueix un punt clau per a la determinació del possible valor negatiu dels estímuls i transferir aquest valor a altres estructures efectores com l'estriat o CeA.

1.2.1.2 Nucli central de l'amígdala

El nucli central de l'amígdala (CeA) s'activa en resposta a estímuls negatius. Té dues divisions, medial (CeM) i lateral (CeL), i en particular, és la seua subdivisió medial, la que constitueix el principal output (Tye, 2011). A CeA hi ha una majoria de cèl·lules GABAèrgiques (McDonald, 1982), però algunes d'elles expressen també altres neuropèptids (Gray i Magnuson, 1992; Yilmazer-Hanke, 2012). Convé destacar en especial l'expressió de CRH (Swanson *et al.*, 1983; Potter *et al.*, 1992, 1994), pel seu important paper en coordinar les components autonòmiques, comportamentals i emocionals de la resposta d'estrès (Bale i Vale, 2003). A l'encèfal existeixen dos receptors de CRH, que tenen cinètiques i efectes diferents sobre la fisiologia cel·lular. En concret,

els receptors CRHR₁ són sensibles a concentracions baixes de CRH, mentre que els tipus CRHR₂ s'activen solament amb concentracions altes de CRH (Lukkes *et al.*, 2008; Puglisi-Allegra i Andolina, 2014).

Resulta interessant que la CRH alliberada per CeA pot estar regulada de manera independent a com ho està la hipotalàmica; els estudis en rosegadors han demostrat que l'estrès incrementa l'expressió de CRH en el NPV i a CeA, mentre que l'administració de corticosterona disminueix l'expressió de CRH en el NPV, però incrementa l'expressió de CRH a CeA (Schulkin *et al.*, 1998).

L'activació de CeA desencadena la resposta visceromotora i comportamental front a estímuls estressants (Davis i WHalen, 2001). Pot ser activada tant per estressors físics, que pertorben a nivell fisiològic, cardiovascular o immunològic (Jankord i Herman, 2008) com per estressors emocionals (Dayas, 1999). També participa de l'expressió de conductes de por (Davis, 1992; Ledoux *et al.*, 1988).

Aquesta resposta visceromotora és possible gràcies a les seues projeccions directes sobre l'hipotàlem (Tye, 2011); la seua estimulació activa l'eix HHA, generant símptomes d'ansietat i estrès (Bing *et al.*, 2008). A més, CeA també projecta sobre el tronc de l'encèfal, en particular sobre la substància negra (SN), el nucli del tracte solitari i el nucli parabraquial, sobre VTA i el locus coeruleus, i també sobre les àrees ventrolaterals de la medul·la (Sah *et al.*, 2003). És de destacar la projecció de CeA sobre la substància gris periaqueductal, eferència crítica per a l'expressió de la por en comportaments de *freezing* (Kim *et al.*, 1993; Amoranpanth *et al.*, 1999). No es coneixen encara les dianes concretes de CeA dins de PAG ni els mecanismes concrets que medien aquest *freezing*, però sembla clar que depèn de la projecció des de CeA (Tovote *et al.*, 2015).

Per tant, l'activació de CeA per estressors desencadena respostes tant fisiològiques com comportamentals (Davis i WHalen, 2001). A més a més, CeA rep projeccions des del complex BLA (Ledoux, 2000), per la qual cosa pot generar respostes front a estímuls condicionats; de fet, la seua lesió danya l'expressió de respostes de por condicionada (Kapp *et al.*, 1979; Iwata *et al.*, 1986; Sah *et al.*, 2003; figura 3).

Convé destacar que el circuit BLA-CeA es considera crucial en la gestió de l'ansietat, tant a nivell fisiològic com patològic. De fet, en episodis d'ansietat generalitzada hi ha una activitat anormal entre BLA i CeA (Tye, 2011). En aquest circuit, BLA seria el substrat per a l'adquisició o aprenentatge de respostes de por (Ledoux, 1993; Maren *et al.*, 1996), mentre que de CeA depèn l'inici de la resposta endocrina i comportamental front a l'estressor (Tye, 2011).

1.2.1.3 Neurons intercalades de l'amígdala

D'altra banda, cal parlar de les neurones intercalades de l'amígdala (ITC). Les ITC, és caracteritzen per ser neurones GABAèrgiques mitjanes. Aquestes presenten connexions amb neurones d'una gran varia-

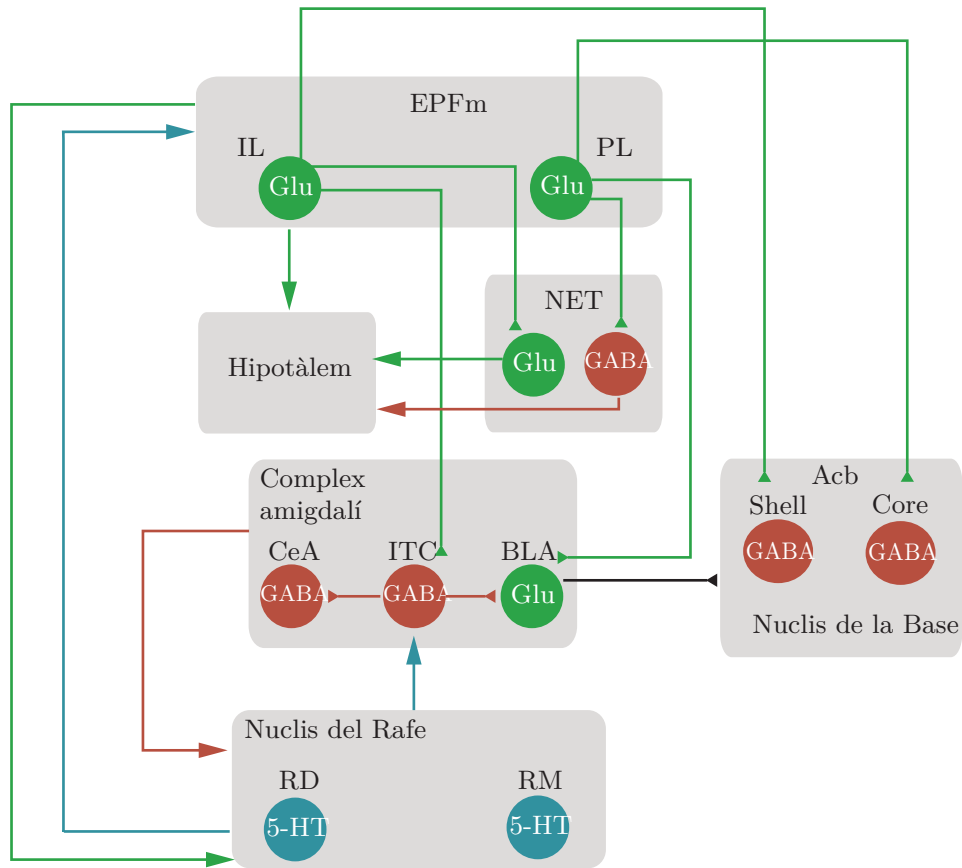


Figura 3: Connexions de l'EPFm amb altres estructures implicades en la resposta d'estrès. Verd: projeccions glutamatèrgiques (Glu); Roig: projeccions GABAèrgiques (GABA); Blau: projeccions serotoníniques (5-HT). Abreviatures: IL: escorça infralímbica; PL: escorça prelímbica; NET: nucli del jaç de l'estria terminal (NST); CeA: nucli central de l'amígdala; ITC: cèl·lules intercalades de l'amígdala; BLA: nucli basolateral de l'amígdala; RD: rafe dorsal; RM: rafe medial.

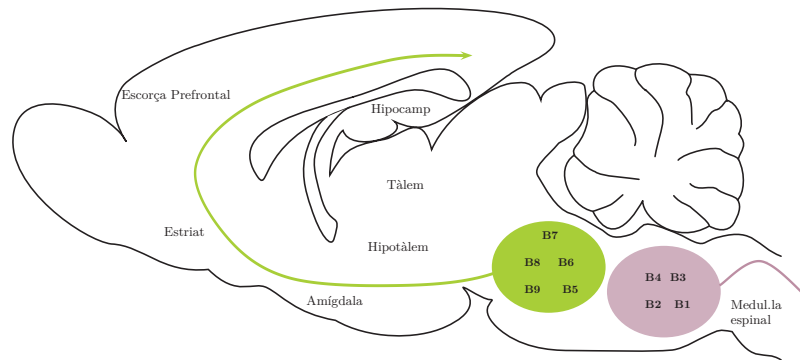


Figura 4: Nuclis serotoninèrgics del rafe i les seues principals eferències. En verd: projeccions ascendents. En roig: projeccions descendents. Adaptat de Breese, 1975

bilitat neuroquímica: GABAèrgiques, glutamatèrgiques, colinèrgiques, noradrenèrgiques i dopaminèrgiques (Palomares-Castillo, 2012).

Es divideixen en dos grans grups, les neurones intercalades principals (ITM) situades en posicions més ventral respecte BLA i CeA i les neurones intercalades paracapsulars (ITPC) que es subdivideixen en tres subgrups: les laterals, les medials (situades entre CeA i BLA) i les anteriors (per a una revisió veure Palomares-Castillo, 2012).

Les ITC projecten sobre CeA, BLA i el NET, i per tant ocupen una posició ideal per a regular la transferència d'informació sobre i des de l'amígdala; modulen tant el principal input de l'amígdala, BLA, amb la què mantenen connexions recíproques, com el principal output, CeA (Pare i Smith 1993; Royer *et al.*, 1999; figura 3). A més, reben projeccions des de l'escorça prefrontal medial, específicament IL (Berretta *et al.*, 2005; Manko *et al.*, 2011; Pinto i Sesack, 2008; Quirk *et al.*, 2003), de manera que representen una interfase inhibidòria ideal perquè aquesta pugui modular l'amígdala (Royer *et al.*, 1999).

1.2.2 Els nuclis del rafe

Els nuclis del rafe són un grup de nuclis neuronals situats en la línia mitja del tronc de l'encèfal, en l'àrea corresponent a la formació reticular. Constitueixen el principal origen del sistema serotoninèrgic (Jacobs i Azmitia, 1992) i s'organitzen topogràficament per grups neuronals. En rata s'ha confirmat mitjançant la descripció de Dahlström i Fuxe (1964), la categorització de grups cel·lulars serotoninèrgics en 9 grups, amb una nomenclatura de B1 a B9 (Steinbusch i Nieuwenhuys, 1981). Les regions com el rafe medial (RM) i el rafe dorsal (RD), que es correlacionen amb les regions B6 i B7 segons el criteri de Dahlström i Fuxe (figura 4) posseeixen la majoria de les neurones serotoninèrgiques (Steinbush, 1984).

1.2.2.1 Rafe Dorsal (RD)

El nucli que posseïx l'agregat més gran de neurones serotoninèrgiques és el nucli dorsal del rafe, RD (figura 4), localitzat en la part ventromedial de la substància grisa periaqüeductal (Hale *et al.*, 2012). Aquest nucli, s'estén rostrocaudalment al llarg de 2 mm vorejant ventralment el nucli del fascicle longitudinal, dorsalment a l'aqüeducte cerebral i rostralment al quart ventricle (Waselus *et al.*, 2011; Hale i Lowry, 2011).

El RD presenta una gran complexitat funcional degut a un gran nombre de connexions i la presència de diferents tipus de neurotransmissors i neuropèptids (Steinbusch, 1981). A més de les cèl·lules 5-HT, RD conté neurones GABAèrgiques, glutamatèrgiques i dopaminèrgiques, d'entre les quals destaca la influència de les GABAèrgiques inhibint l'output serotoninèrgic (Steinbusch i Niewenhuys R, 1983).

El sistema serotoninèrgic representa en els mamífers un dels sistemes més complexos i extensos, i està involucrat en un gran nombre de funcions degut a les seues projeccions a diferents i nombroses parts del SNC (Hale i Lowry, 2011).

Entre d'altres, el RD s'activa quan es detecta un estressor i, mitjançant el flux de 5-HT, intervé en la modulació de la resposta d'estrès a nivell fisiològic comportamental i neuroendocrí (Holmes, 2008; Hale *et al.*, 2013).

D'una banda existeixen projeccions serotoninèrgiques entre els mateixos nuclis del rafe, de manera que la serotonina regula la seua pròpia freqüència de descàrrega a través d'autoreceptors somatodendrítics (Jacobs i Azmitia, 1992).

Però a més, RD està connectat amb moltes altres estructures arreu de l'encèfal (Waselus *et al.*, 2011). El RD projecta sobre la BLA i l'amígdala estesa, sobre les què té un paper eminentment activador (Holmes, 2008; Waselus *et al.*, 2011; Hale i Lowry *et al.*, 2011; figura 3). A més, també projecta sobre l'escorça prefrontal medial (Holmes, 2008; Waselus *et al.*, 2011; Puig i Gullledge, 2011; figura 3) i l'hipocamp (Imai *et al.*, 1986), que tenen un paper inhibitor de les respostes d'estrès. És a dir, en resposta a un estressor, el RD pot activar estructures que afavoriran la resposta d'estrès, com és CeA, i d'altres que participaran de la seua limitació, com és l'EPFm.

Respecte de les seues aferències, convé destacar les que rep des d'EPFm (Peyron *et al.*, 1998) i l'amígdala, en especial (CeA) (figura 3; Peyron *et al.*, 1998). És important destacar que les aferències glutamatèrgiques des d'EPFm disminueixen el flux 5-HT, mentre que les de CeA l'afavoreixen. Aquestes connexions, per tant, modularan l'output des de RD, i per tant la seua influència recíproca sobre CeA i EPFm. Aquest bucle és fonamental en la regulació de múltiples processos, entre els quals la gestió de la resposta d'estrès, com s'explicarà més endavant.

1.2.3 La serotonina i els seus receptors

En aquest punt convé explicar alguns detalls sobre els diferents tipus de receptors de serotonina que hi ha, on es localitzen i quines són les seues característiques fisiològiques, donat que l'efecte concret de la 5-HT en cada nucli depèn molt de la distribució concreta dels seus receptors (Barnes i Sharp, 1999).

Hi ha descrites 7 famílies de receptors 5-HT tipus 1 (5-HT₁), tipus 2 (5-HT₂), tipus 3 (5-HT₃), tipus 4 (5-HT₄), tipus 5 (5-HT₅), tipus 6 (5-HT₆) i tipus 7 (5-HT₇), dins de les quals hi ha diferents subgrups (Hoyer *et al.*, 1994). Els receptors de 5-HT tenen diferents propietats sobre l'excitabilitat de la cèl·lula i, per tant, tenen un paper clau en la regulació de l'efecte de la serotonina (Barnes i Sharp, 1999).

A l'EPFm s'expressen de manera majoritària els receptors 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}, tant a les interneurons presents en la capa 5 (Willins *et al.*, 1997, Jakab i Goldman-Rakic, 2000, Santana *et al.*, 2004) com les neurones piramidals (Willins *et al.*, 1997, Jakab i Goldman-Rakic, 1998, DeFelipe *et al.*, 2001; Santana *et al.*, 2004). Cal esmentar, però, que les interneurons GABAèrgiques, que es situen en capes 1, 2 i 3 de l'escorça expressen també receptors 5-HT₃ (Morales i Bloom, 1997; Férézou *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2010). De manera general els 5-HT_{1A} tenen caràcter inhibitori de l'activitat de la cèl·lula i 5-HT_{2A} i 5-HT₃ excitatori (Puig i Gullledge, 2011; Celada *et al.*, 2013).

En concret, els receptors 5-HT_{2A} a EPFm, es localitzen generalment en dendrites i espines de neurones piramidals i dendrites de les interneurons GABAèrgiques (Aghajanian i Marek, 1997; Cornea-Hebert *et al.*, 1999; Jansson *et al.*, 2001; Miner *et al.*, 2003) amb un paper predominantment excitatori (Araneda i Andrade, 1991; Amargos-Bosch *et al.*, 2004).

En canvi, els receptor 5-HT_{1A} es situen al principi de l'axó, la qual cosa els atorga la capacitat de frenar els potencials d'acció; d'acord amb això, l'activació dels receptors a les neurones piramidals d'EPFm inhibeix l'output glutamatèrgic (Sprouse i Aghajanian, 1987; Celada, 2001). Per tant, l'efecte net sobre l'activació/inhibició de l'arribada de 5-HT a EPFm dependrà de la proporció de cada tipus de receptor a cada tipus cel·lular (Fisher *et al.*, 2011). També convé esmentar la presència, encara que en menor grau, dels receptors 5-HT₇ en àrees com el RD amb un paper important en la modulació d'activitat oscil·latòria lenta en la son (Monti i Jantos, 2014).

A altres regions com l'amígdala també co-localitzen receptors 5-HT₁ (Saha *et al.*, 2010), 5-HT₂ (Pompeiano *et al.*, 1994) i 5-HT₃ (Morales *et al.*, 1996). Aquests receptors es distribueixen tant a les neurones glutamatèrgiques com a les GABAèrgiques, sobre les que també tindran funcions inhibitories i excitatòries. En qualsevol cas, la 5-HT sembla tenir efecte activador de l'amígdala i secundàriament sobre l'eix HHA (Feldman *et al.*, 2000).

Per últim, pel que fa al propi RD, cal destacar, la presència dels receptors 5-HT_{1A}. Aquest actuen com a autorreceptors a les cèl·lules 5-HT, amb funció inhibidòria sobre l'activitat de les neurones serotoninèrgiques (Bosker *et al.*, 1996; Dudley *et al.*, 1999; Hajós *et al.*, 1995; Kreiss i Lucki, 1994). Així, quan la concentració de 5-HT és molt alta, activen i disminueixen l'output serotoninèrgic (Bosker *et al.*, 1996; Dudley *et al.*, 1999; Hajós *et al.*, 1995; Kreiss i Lucki, 1994).

1.2.4 *Influència de la CRH sobre l'alliberament de 5-HT des de RD*

També convé explicar en aquest punt que el flux de 5-HT des de RD està molt influenciat per la CRH alliberada per CeA. Com s'ha descrit, a CeA hi ha neurones que expressen CRH i la seua projecció sobre RD s'activa amb l'estrès. Al RD s'expressen els dos tipus de receptors de CRH, tant els receptors de tipus 1 (CRHR₁) com els de tipus 2 (CRHR₂), i tant a les neurones 5-HT com no-5-HT (Valentino i Commons, 2005; Lukkes *et al.*, 2008). Aquests receptors tenen efectes antagònics, de manera que l'activació dels CRHR₁ activa les interneurons GABAèrgiques, la qual cosa resulta en un efecte inhibitori sobre les serotoninèrgiques (Price *et al.*, 1998; Kirby *et al.*, 2000; Price i Lucki, 2001). Per tant, l'activació dels CRHR₁ disminueix el flux serotoninèrgic (Valentino i Commons, 2005). Pel contrari, els receptors CRHR₂ tenen un efecte excitatori de les cèl·lules 5-HT per inhibició de les neurones GABA (Pernar *et al.*, 2004).

És rellevant destacar que la distribució dels receptors CRH a RD és susceptible a canvis davant l'exposició repetida d'estrès (Waselus *et al.*, 2009; Wood, 2013). En concret, l'exposició a experiències estressants té com a conseqüència la interiorització del receptor CRHR₁, mentre que els CRHR₂ són reclutats a la membrana plasmàtica. Aquest canvi s'associa amb una modificació en la resposta fisiològica de les neurones 5-HT de RD generant una major excitació d'aquestes (Kirby *et al.* 2000; Price i Lucki, 2001; Pernar *et al.*, 2004; Waselus *et al.*, 2009), i amb canvis en les respostes comportamentals (Valentino, 2010).

1.2.5 *Escorça prefrontal*

L'escorça prefrontal (EPF) és l'estructura cerebral amb major complexitat morfològica i funcional tant en humans com en rosegadors, amb un desenvolupament filogenètic i ontogenètic tardà. És una de les regions més desenvolupades de l'encèfal i ocupa un terç de l'escorça (Fuster *et al.*, 2002). L'EPF forma una complexa xarxa de relació amb altres zones de l'encèfal (Gronewegen i Uylings, 2000; Fuster, 2001) per la qual cosa participa en la integració d'una gran quantitat de funcions cognitives i fisiològiques (Miller i Cohen, 2001; Fuster, 2001).

Anatòmicament, està situada en la part més rostral del lòbul frontal i en els humans es divideix en tres grans zones: l'escorça prefrontal or-

bital (àrees 10, 11 i 12 de Brodmann), l'escorça prefrontal medial (part cingulada anterior, àrea 24 de Brodmann; part ventromedial, àrea 25 de Brodmann; part dorsomedial, àrea 32 de Brodmann) i l'escorça prefrontal lateral (àrees 9, 10, 44, 45, 46 i 47 de Brodmann; Fuster, 2001).

Funcionalment, se'n distingeixen dos circuits. El circuit orbitomedial: implicat en el comportament emocional, i el circuit lateral, més relacionat amb processos cognitius com ara l'organització temporal del comportament, la parla i el raonament abstracte (Fuster, 2001). Dins el circuit orbitomedial, les regions orbitofrontals laterals estan més implicades en la integració de la informació sensorial, la ingesta i en respostes de càstig o comportaments automatitzats, i són les regions medials més ventrals, junt amb les orbitals medials les que es relacionen amb estructures visceromotores crítiques en la modulació del comportament (Ongut *et al.*, 2003).

1.2.5.1 *L'escorça prefrontal medial en rossegadors*

L'EPF manté un grau considerable d'homologia funcional i anatòmic amb la descrita en humans (Ongür i Price, 2000). L'EPF en rossegadors es subdivideix en: escorça lateral (àrea insular agranular dorsal i ventral), orbital i medial (Groenewegen i Uylings, 2000). Aquesta última, està composta per l'àrea cingulada anterior (AC; àrea 24 de Brodman), l'escorça agranular medial (AGm), l'escorça dorsal o prelímbica (PL; àrea 32 de Brodman) i l'escorça ventral o infralímbica (IL; àrea 25 de Brodman; Groenewegen i Uylings, 2000).

Dintre de l'EPFm en particular, les regions més dorsals, AGm i la AC estan implicades en comportaments de tipus motor, mentre que IL i PL, en posició més ventral, s'encarreguen dels processos emocionals, cognitius i mnemotècnics (Heidbreder i Groenewegen, 2003), encara que entre elles tenen funcions diferents. Així, PL sembla més implicada en funcions cognitives (la seua funció seria més similar a la d'escorça dorsolateral en primats; figura 5), mentre que és IL la que es considera el centre visceromotor (Hurley-Gius i Neafsey, 1986; Vertes, 2004; figura 5), equivalent a l'EPFvm en humans.

L'àrea medial de l'escorça prefrontal (l'EPFm) està fortament implicada en la regulació d'un ampli espectre de funcions cognitives, com són la memòria de treball i la memòria remota, la planificació del comportament i l'atenció (Fuster 1997), la detecció d'errors (Holroyd *et al.*, 2002) i el control executiu (Ridderinkhof *et al.*, 2004). A més, participa en la regulació emocional i es pot dir que és la responsable de traduir l'emoció en acció (McKlveen *et al.*, 2013). També intervé en el processament i consolidació d'aprenentatges, inclosos els de tipus condicionat (Rushworth *et al.*, 2011).

La part ventromedial de l'EPFm, l'EPFvm en humans o IL en rossegadors, és una estructura clau en el procés de presa de decisions, és a dir, en escollir la conducta apropiada (àrea 25; Euston *et al.*, 2012).

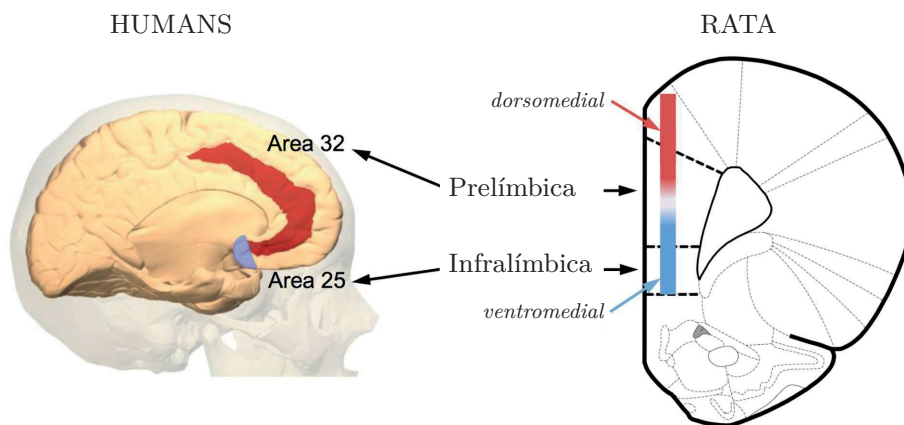


Figura 5: Esquema de les àrees de l'EPFm homòlogues en humans i rates. L'escorça prefrontal correspon a l'àrea 32 de Brodmann. L'escorça prefrontal medial a l'àrea 25 de Brodmann. Adaptat de Gass i Chandler, 2013

També té un paper crític en readaptar aquesta conducta quan el valor dels contextos o els estímuls canvia (Euston *et al.*, 2012; Likhtik i Paz, 2015). És a dir, monitoritza l'execució de les accions, de manera que quan ja no són les més apropiades serà la responsable d'inhibir-les (Dalley *et al.*, 2004). En coherència amb aquestes funcions, la lesió de l'EPFm es reflexa en l'aparició de conductes poc adaptatives, que a més es manifesten de manera perseverativa i reiterada (Ragozzino *et al.*, 1999).

Respecte de l'estrès, l'EPFm participa activament en la seua regulació (Diorio, 1993; Jankord i Herman, 2008) i processament, sent la seua activitat crítica per adequar la resposta generada al context i l'estímul (Radley *et al.*, 2006; Cerqueira *et al.*, 2007). Específicament, sembla tenir una funció inhibidòria de la resposta d'estrès, tant en les vessants autonòmiques, neuroendocrines (Sullivan i Gratton, 1999) i comportamentals (Cerqueira *et al.*, 2007).

1.2.5.2 Connexions de l'escorça prefrontal medial

Respecte de les connexions d'EPFm, descriurem amb més detall aquelles que manté amb estructures implicades en la regulació de la resposta d'estrès (figura 3). A més, farem distinció entre les particulars de la divisió infralímbica (IL) i la prefrontal (PL).

Respecte de les connexions que modulen l'eix HHA, IL i PL estableixen connexions distintes, i per tant, generen efectes molt diferents. IL projecta sobre la part anterior del NET, i el nucli del tracte solitari, de manera que provoca una excitació de l'eix (Hurley *et al.*, 1991; Sessack *et al.*, 1989; Takagishi i Chiba, 1991). De fet, la seua estimulació genera l'augment basal de la concentració de corticosterona (Ronzo *et al.*, 2016), amb la lesió s'atenua l'activitat de l'eix HHA (Jinks i McGregor, 1997; Sullivan i Gratton, 1999, 2002) i amb la seua in-

hibició atenua l'augment de corticosterona (Radley *et al.*, 2006). Pel contrari, PL projecta sobre l'àrea preòptica ventrolateral, l'hipotàlem dorsolateral i el NPV, implicades en la inhibició de l'estrès i sobre la part posterior del NET, que també té efecte inhibitor (Hurley *et al.*, 1991; Sesack *et al.*, 1989). De manera que quan se l'estimula es veu una clara reducció de l'ACTH i de corticosterona, mentre la seua lesió resulta en l'activació del NPV i l'augment de CRH i ACTH (Jankord i Herman *et al.*, 2008).

Les eferències tant d'IL com PL sobre CeA són escasses (Cassell i Wright, 1986; Buchanan *et al.*, 1994; McDonald *et al.*, 1996; Ghashghaei i Barbes, 2002). En canvi, IL projecta massivament sobre les cèl·lules intercalades de l'amígdala (McDonald *et al.*, 1996; Berreta *et al.*, 2005) que si projecten sobre CeA. A més, ambdues regions, però sobretot PL, projecten també sobre BLA (Vertes, 2004). A través d'aquestes connexions l'EPFm modula l'output amigdalí.

L'EPFm presenta connexions directes (Steiner i Tseng, 2010) i indirectes, algunes d'elles via amígdala, sobre l'estriat. Les parts més ventromedials, com IL, projecten sobre les parts més ventrals i medials de l'estriat, incloent el *shell* medial del nucli accumbens i la part medial i ventral adjacents del tubercle olfactiv, mentre que regions progressivament més dorsals, projecten sobre regions successivament més laterals i dorsals de l'estriat. La part medial d'IL, junt amb la part ventral de PL projecten sobre el *shell* medial del nucli accumbens (Groenewegen *et al.*, 1996, per revisió). Les projeccions des de PL arriben sobre el *core* de l'accumbens i s'extenen dorsal i caudalment en el caudat-putamen (Steiner i Tseng, 2010).

Per últim és important destacar que tant IL com PL mantenen connexions recíproques amb DR (Vertes, 2004; Gabbot, 2005; figura 3).

1.3 INTERACCIÓ CEA-RD-EPFM/IL EN RESPOSTA A UN ESTRESSOR

En el nostre treball ens centrem en estudiar la interacció entre CeA com a promotor de la resposta d'estrès i de l'EPFm amb un paper modulador o fins i tot inhibitor d'aquesta resposta. En particular, ens centrarem en l'estudi d'IL, amb un paper més important en inhibir l'amígdala (McDonald *et al.*, 1996; Berreta *et al.*, 2005). A més a més, analitzarem quin paper juga el nucli del rafe dorsal i la 5-HT en la interacció de CeA i EPFm en la gestió de l'estrès.

1.3.1 CeA i RD en resposta a l'estrès

Atenent a allò que hem comentat, quan l'individu s'exposa a un estressor, una de les conseqüències que pot haver-hi és que s'active CeA (Dayas, 1999; Jankord i Herman, 2008), de manera directa (Jankord i Herman, 2008) o bé a través de l'input des de BLA (LeDoux, 2000).

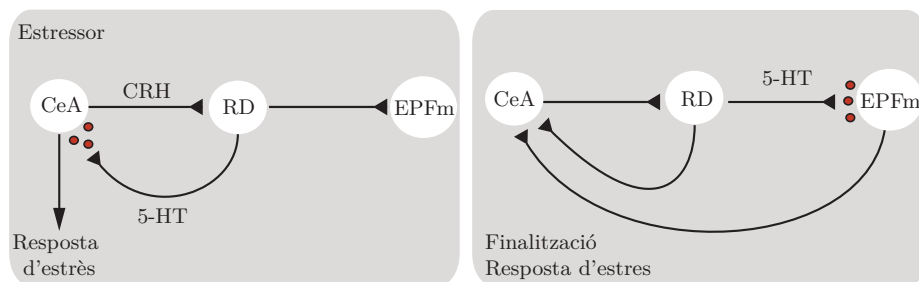


Figura 6: Esquerra: l'exposició a un estressor activa CeA, que promou la resposta d'estrès. A més, CeA alliberarà CRH sobre RD, la qual cosa afavoreix l'alliberament de 5-HT des d'aquest, entre d'altres estructures, sobre la pròpia CeA. La 5-HT activa CeA i contribueix a l'expressió de l'estrès. Dreta: quan la 5-HT arriba a EPFm afavorirà la inhibició de la resposta d'estrès, almenys en part per inhibir els outputs des de CeA i RD. Ambdós fenòmens semblen dependre de l'activació dels receptors CRHR2 a RD.

Com a conseqüència es promou l'acció de l'eix HHA (Bing *et al.*, 2008), podent desencadenar-se també l'expressió de conductes de por per connexions amb el tronc de l'encèfal (Kim *et al.*, 1993). A més a més, l'activació de CeA comportarà l'alliberament de CRH sobre altres estructures, entre d'altres el RD (Forster *et al.*, 2006)

Quan el flux de CRH a RD és baix, s'activen els receptors CRHR1 la qual cosa origina un alliberament moderat de 5-HT a altres àrees de l'encèfal (Kirby *et al.*, 2000; Roche *et al.*, 2003; Day *et al.*, 2004). L'activació dels receptors CRHR1, sembla tenir propietats ansiogèniques, tant a nivell endocrí, comportamental com autonòmic (Heinrichs i Koob, 2004). Front a altes concentracions de CRH, en RD s'activaran els receptors CRHR2, i s'originarà major descàrrega de 5-HT (Kirby *et al.*, 2000; Pernar, 2004; Staub *et al.*, 2006), entre d'altres estructures sobre la pròpia amígdala (figura 6 esquerra). Aquest flux elevat de 5-HT a l'amígdala afavoreix respostes comportamentals de tipus passiu (Price *et al.*, 1998; Amat *et al.*, 2004; Pernar, 2004; Staub *et al.*, 2006; Lukkes *et al.*, 2008) i es relaciona amb símptomes de depressió. Així, els increments de 5-HT que es registren a l'amígdala per activació dels receptors CRHR2 a RD desencadenen una major expressió de *freezing* (Hammack *et al.*, 2003; Forster *et al.*, 2006,2008), així com la generació de respostes de por condicionada i alteracions en la capacitat d'aprendre conductes actives de fugida (Amat *et al.*, 2004; Pernar *et al.*, 2004; Maier i Watkins, 2005; Lukkes *et al.*, 2008; Andolina *et al.*, 2013; Puglisi-Allegra i Andolina, 2015).

1.3.2 RD i EPFm en la resposta a l'estrès

L'activació dels receptors CRHR2 en RD té també efectes ansiolítics. En ratolins knockout de receptors CRHR2 s'ha pogut demostrar que

sense aquest receptor els animals mostren una major taxa de comportaments d'ansietat i depressius (Kishimoto *et al.*, 2000). En primats s'ha vist que en aquells més resistents a generar una resposta d'estrès hi ha una major expressió de receptors CRHR2 en RD que en aquells sensibilitzats a l'estrès (Bethea *et al.*, 2011). De la mateixa manera, altres estudis han demostrat que un major augment dels receptors CRHR2 a les neurones 5-HT en RD va acompanyat amb una major capacitat de recuperació de l'estrès (Wood *et al.*, 2013). A més, l'efectivitat d'alguns tractaments antidepressius es correlaciona amb una major expressió dels receptors CRHR2 (Wood *et al.*, 2013).

Aquest efecte ansiolític es relaciona amb un augment del flux de 5-HT sobre l'EPFm (figura I6 dreta; Kirby *et al.*, 2000; Hammack *et al.*, 2003). Com hem descrit, l'EPFm té un paper clau en ajustar la resposta d'estrès adequadament. La seua inactivació mitjançant agonistes GABAèrgics té com a conseqüència que es genere front a un estrès potencialment controlable, una resposta semblant a la que es produiria davant un estrès sense escapatòria, donant lloc a respostes d'indefensió apresada (Amat *et al.*, 2005, 2006, 2008). Aquest paper controlador de la resposta generada per l'EPFm depèn en gran mesura de 5-HT. L'input serotoninèrgic des de RD sobre EPFm es correlaciona amb la inhibició de la resposta passiva d'estrès i l'expressió de conductes actives de fugida (Cooper i Huhman, 2007). L'increment de 5-HT a EPFm coincideix amb la finalització de la resposta de *freezing* i la reducció dels nivells plasmàtics de CRH en sang (Forster *et al.*, 2004, 2006, 2008) així com amb la facilitació de respostes d'afrontament actiu (Beekman *et al.*, 2005).

Aquesta modulació per part de l'EPFm es deu en part a la regulació de l'activitat 5-HT de RD (Amat *et al.*, 2005, 2006, 2008) i CRH de CeA (Quirk *et al.*, 2003). Així, quan l'estrès és controlable, les neurones piramidals de l'EPFm, actuen atenuant la reactivitat de RD i de CeA (Amat *et al.*, 2008). En inhibir CeA queda frenada la resposta d'estrès amigdalina. La mateixa conseqüència es produiria de manera indirecta per la inhibició de RD, ja que el flux serotoninèrgic des de RD sobre CeA l'activa.

D'altra banda, l'EPFm també modula la conducta generada mitjançant eferències sobre altres regions que participen en la generació de conductes límbicomotores, com és l'estriat. Les projeccions sobre l'estriat de l'EPFm poden ser directes (Vertes, 2004) o indirectes via l'amígdala (McDonald *et al.*, 1992). A més, l'EPFm també intervé sobre l'activitat de la substància grisa periaqüeductal, involucrada en el sistema de reforç, en conductes defensives i agressives i en la modulació del dolor (Hikosaka, 2010; Li *et al.*, 2011).

1.3.2.1 *Model d'estudi de la interacció CeA-RD-EPFm en l'estrès: estimulació elèctrica de CeA*

Per a abordar l'estudi de la interacció CeA-RD-EPFm/IL, el nostre disseny experimental es basa en gran mesura en els treballs de Forster *et al.* (2008). En aquest treball els autors estudien el circuit CeA-DR-EPFm i la interacció 5-HT-CRH en el context de l'estrès. En concret avaluen els efectes de l'activació de CeA mitjançant la seua estimulació elèctrica sobre l'activació de l'eix HHA (per determinar la resposta d'estrès) i sobre els nivells de 5-HT a EPFm. Convé destacar que l'estimulació elèctrica de CeA replica els paràmetres que manifesta aquesta estructura quan l'animal es exposat a estrès per immobilització.

El seus resultats demostren que l'activació elèctrica de l'amígdala generaria, a través de les seues eferències, una resposta d'estrès que coincidirà amb un augment de 5-HT en la pròpia amígdala. També demostren que la finalització d'aquesta resposta correlaciona amb increments significatius de 5-HT a EPFm.

És per això, basant-nos en aquest disseny, en la primera part del nostre treball estudiem la interacció entre CeA-IL-RD en una situació d'estrès generat per activació elèctrica de CeA. Aquest estudi l'abordarem des del punt de vista de l'anàlisi de les oscil·lacions cerebrals com a mesura de l'activitat neuronal poblacional.

1.4 OSCIL·LACIONS CEREBRALS

1.4.1 *Què són les oscil·lacions cerebrals*

L'activitat coordinada d'una població neuronal a partir dels seus potencials d'acció s'integra espacialment i temporal, produint-se una sincronització de les activitats individuals, la qual cosa es tradueix en l'aparició patrons oscil·latoris que poden ser registrats en virtut dels fluxos de corrents derivats de l'activitat neuronal (figura 7).

Per tant, les oscil·lacions cerebrals són el producte final de l'activitat poblacional sincrònica de diferents poblacions neuronals (Buzsaki, 2006). Experimentalment poden registrar-se aquest potencial elèctric de camp (local field potential, LFP), derivat dels fluxos iònics que resulten dels potencials d'acció i postsinàptics locals. En aquest sentit, el processament d'un estimul pot realitzar-se mitjançant la sincronització de les descàrregues de diferents grups neuronals a distintes freqüències i fases. Aquesta sincronització entre poblacions neuronals d'un àrea cortical, o bé entre regions separades espacialment, és el correlat del flux d'informació en accions diverses, com ara tasques perceptives, motores o cognitives (Artieda *et al.*, 2009). Com que certs patrons comportamentals es correlacionen de manera específica amb activitats oscil·latòries a determinades freqüències, es pensa que pug

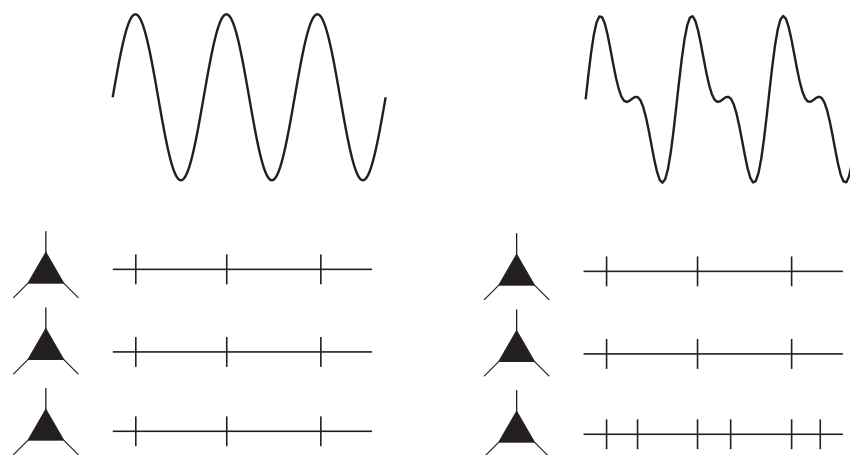


Figura 7: Esquema sobre la sincronització poblacional. Esquerra: població neuronal que dispara de manera homogènia, a una banda de freqüència determinada i no rep activitat oscil·latòria d'altres poblacions neuronals. Dreta: població de neurones que disparen de manera més heterogènia degut a la combinació d'activitat oscil·latòria a diferents bandes de freqüència.

ser un mecanisme per al processament de la informació neural (Von der Malburg, 1995; Von der Malburg i Schneider, 1986).

Les distintes bandes de freqüència, que varien lleugerament en cada espècie, es poden interpretar com a mitjà de comunicació entre poblacions neuronals a diferents distàncies: mentre que les oscil·lacions de baixa freqüència poden "viatjar" a llargues distàncies i comunicar àrees allunyades entre si, les freqüències més ràpides es relacionarien amb l'intercanvi d'informació en poblacions locals (Buzsáki *et al.*, 2013).

1.4.2 Funcions de les oscil·lacions cerebrals

En la rata, en condicions fisiològiques, les oscil·lacions de freqüències més ràpides inclouen les ones beta (16 – 30Hz), gamma baix (30 – 60Hz) i alt (60 – 80Hz), ripples (140 – 200Hz) o inclús ones de major freqüència (figura 8). Les freqüències oscil·latores altes han estat descrites en la vigília i es vinculen en processos atencional, de memòria i percepció (Benchenane *et al.*, 2011; Ray i Maunsell, 2015). No obstant, també apareixen durant les fases actives de la son, associades als estats actius (*Up states* de les ones lentes o ritmicitat theta de la fase REM).

Les spindles (12 – 16Hz) i les ones theta (3 – 12Hz) són característiques dels estats actius de l'hipocamp i estructures relacionades, incloent l'exploració i l'*arousal* elevat, o la fase REM de la son. L'oscil·lació theta (4-12 Hz) a l'EPF, es relaciona en processos de comuni-

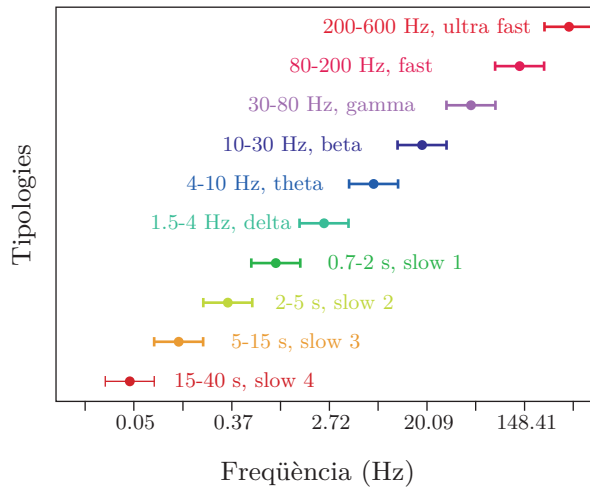


Figura 8: Representació d'oscil·lacions cerebrals a diferents bandes de freqüència. Adaptat de Buzsaki i Watson 2012.

cació entre hipocamp i escorça (Benchenane *et al.*, 2011), concretament en funcions d'aprenentatge i memòria (Knyazev, 2007; Benchenane *et al.*, 2011). Igualment, també s'ha vinculat aquesta activitat oscil·latòria en la xarxa HPC-AMI-EPFm (Seidenbecher *et al.*, 2003; Adhikari *et al.*, 2010; Popa *et al.*, 2010; Lesting *et al.*, 2011), amb l'expressió d'emocions, conductes d'ansietat (Adhikari *et al.*, 2010) i consolidació de la por (Popa *et al.*, 2010)

Les ones delta (1.5 – 3Hz) i les ones lentes (*slow oscillations*, 0.5 – 1.5Hz, SW) apareixen durant la vigília tranquil·la i la son NO REM. Aquestes oscil·lacions lentes, generen estats sincrònics de l'activitat en grans regions cerebrals. És per això que les SW tenen un paper important en el processament de la informació cortical, l'organització temporal de la seua activitat i el manteniment de funcions corticals d'alt nivell, en el que resulta necessari la participació d'un gran nombre d'àrees cerebrals (Steriade, 2003, 2006). Convé destacar que també estan involucrades en la regulació d'àrees subcorticals, com ara l'hipotàlem, el talem i el tronc de l'encèfal (Steriade *et al.*, 1993a 1993b).

Avui en dia, es conegut que les SW són substrats funcionals de processos cognitius rellevants (Marshall, 2003; Puig *et al.*, 2008; Mascetti *et al.*, 2013). Aquest tipus d'ones són típiques de son profunda o son d'ones lentes, i concretament en estats relacionats amb processos de consolidació i recuperació de memòria (Stickgold, 2005; Marshall *et al.*, 2006). Existeixen evidències que demostren que la consolidació i recuperació de memòria depén de processos presents durant la son (Marshall, 2003; Puig *et al.*, 2008) i especialment en períodes de SW (Sejnowski i Destexhe, 2000).

A més a més, a banda de la presència de les SW, cal destacar la participació de les *spindles*, oscil·lacions ràpides (7 – 14Hz), que apareixen incrustades en les SW i que de manera concreta es vinculen

amb la interacció tàlamo-cortical (Dijk Derk Jan, 1995 ; Steriade *et al.* 1993a 1993b, 1996). Les *spindles* estan íntimament lligades amb processos de memòria i aprenentatge i fenòmens de facilitació sinàptica (Sanchez-Vives i McCormick, 2000; Steriade i Timofeev, 2003; figura 8).

1.4.3 Alteracions oscil·latòries en la patologia

L'estudi de les dinàmiques de les xarxes neuronals resulta de gran interès per entendre la comunicació entre àrees cerebrals en relació a processos cognitius (Buzsaki i Draguhn, 2004) però també per a detectar disfuncions que puguen ser substrat de malalties psiquiàtriques (Banaschewski i Brandeis, 2007; Ford *et al.*, 2007; Van der Stelt i Belger, 2007; Buzsaki i Watson, 2012).

D'acord amb aquesta idea, l'alteració de l'activitat oscil·latòria a determinades freqüències, es relaciona directament amb trastorns neuropatològics com el deteriorament cognitiu (Başar i Güntekin, 2008), el trastorn bipolar (Başar i Güntekin, 2008), la hiperactivitat (Başar i Güntekin, 2008), la malaltia de Parkinson (Artieda *et al.*, 2009), l'epilèpsia (Penfield i Jasper, 1954; Artieda *et al.*, 2009), l'alcoholisme (Buzsaki i Watson, 2012), l'esquizofrènia (Başar i Güntekin, 2008; Buzsaki i Watson, 2012; Artieda *et al.*, 2009), la depressió (Fenzl *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012, 2016) i l'estrès crònic (Dias-Ferreira *et al.*, 2013).

A banda dels canvis estructurals i neuroquímics també poden trobar-se correlacions entre malalties psiquiàtriques i activitat neuronal de les regions implicades en el control emocional. En concret, en estudis amb pacients amb depressió resistent a tractament, s'han descrit alteracions en la banda beta en escorça prefrontal que correlacionen amb el grau de severitat (Clark *et al.*, 2016), així com la seua desincronització, relacionada amb el grau de severitat de la depressió, el grau de negativitat i l'empatia cap a estímuls negatius (Merkl *et al.*, 2015). També s'han observat alteracions en banda beta baixa (15-20 Hz) en pacients amb trastorn bipolar (Lipsman *et al.*, 2014). En el mateix sentit, s'ha pogut implicar a les freqüències gamma (>30 Hz) en EPFm amb estats d'anhedònia.

Per tot això, l'estudi dels circuits, i en particular aquell de l'estrès, comporta una eina molt útil per a la comprensió del seu funcionament normal i patològic.

1.5 ESTIMULACIÓ CEREBRAL PROFUNDA

En la segona part d'aquesta tesi estudiem l'efecte de l'estimulació elèctrica a altes freqüències del nucli accumbens, sobre l'activitat electrofisiològica d'IL. La raó de per què testem aquesta tècnica és pel fet que avui en dia representa una de les tècniques més punteres per a la millora simptomatològica de pacients amb malalties relacionades

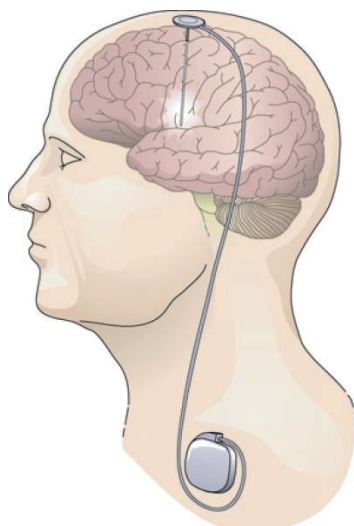


Figura 9: Esquema d'un dispositiu de neuroestimulació intracerebral. L'elèctrode intracerebral es connecta per mitjà d'un cable al neuroestimulador, que s'implanta subcutani.

amb l'emoció, però de la que encara se'n desconeixen els mecanismes concrets. Hi ha dades que mostren com la seua aplicació al nucli accumbens canvia l'activitat elèctrica de grans poblacions de neurones, entre elles les de l'escorça prefrontal medial. Per tot això, trobem interessant aprofundir en la descripció i anàlisi d'aquests canvis per tractar de comprendre'n millor les bases del seu efecte.

1.5.1 Què és l'estimulació cerebral profunda

L'estimulació cerebral profunda (ECP) és un procediment quirúrgic pel que s'implanten elèctrodes en zones específiques del cervell. Els elèctrodes implantats alliberen polsos elèctrics d'alta freqüència en les zones seleccionades (figura 9).

Aquesta tècnica ha estat utilitzada amb èxit durant els últims 20 anys per al tractament de desordres motors com és el cas de la malaltia de Parkinson (Benabid *et al.*, 2007; Gionfriddo *et al.*, 2013). Malgrat ser una tècnica clarament invasiva, mostra un bon nombre d'avantatges, com ara l'alt grau d'efectivitat i seguretat en els resultats obtinguts, la possibilitat ajustar-se de manera individual a la simptomatologia i situació terapèutica de cada pacient, i pel fet de ser reversible (Perez-Egea, 2010).

Actualment, la seua utilització terapèutica ha crescut de manera exponencial, aplicant-se en pacients neuropsiquiàtrics que no mostren millora davant el tractament tradicional mitjançant teràpies psicofarmacològiques (Pierce i Vassoler, 2013; Delaloye i Holtzheimer, 2014), com es el cas del trastorn obsessiu compulsiu (TOC) (Goodman *et al.*,

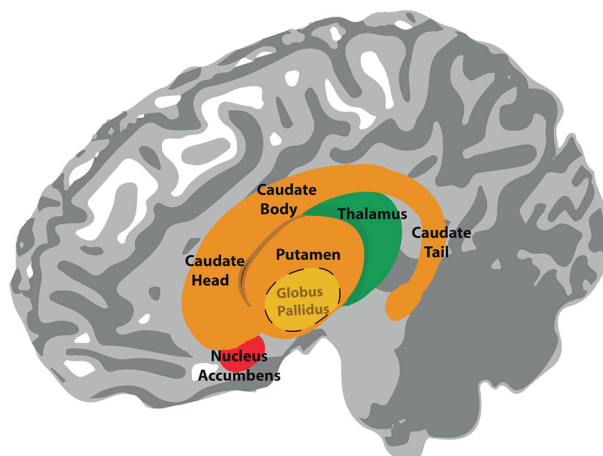


Figura 10: Esquema dels nuclis de la base. S'observen el caudat (cap, cos i cua), el nucli accumbens, el putamen, el globus pàl·lid i el tàlem.

2010; Chen XL *et al.*, 2013; Gionfriddo *et al.*, 2013), la síndrome de Tourette (Flaherty *et al.*, 2005; Kuhn *et al.*, 2007a; Pierce i Vassoler, 2013), la malaltia de Huntington (Chen *et al.*, 2013), la malaltia d'Alzheimer (Chen *et al.*, 2013), alguns trastorns addictius (Kuhn *et al.*, 2007b; Chen *et al.*, 2013; Perez-Egea, 2010; Pierce i Vassoler, 2013), la depressió (Schlaepfer *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2013), el dolor crònic (Levy *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2013;), desordres de consciència (Chen *et al.*, 2013), en trastorns alimentaris (Chen *et al.*, 2013) i finalment s'ha demostrat també la seua efectivitat en processos atencionals, millora de la percepció visual i funció cognitiva (Gruber *et al.*, 2011).

1.5.2 El nucli accumbens com a diana de l'ECP

La principal diana terapèutica de l'ECP en patologies com ara la depressió major, TOC (Van Dijk *et al.*, 2012; Salgado i Kaplitt, 2015) i les addiccions (Vassoler, 2008; Salgado i Kaplitt, 2015) és el nucli accumbens. El nucli accumbens (Acb) pertany al complex estriat, dins dels nuclis de la base telencefàlics. En funció de la seua topografia, podem dividir l'estriat en dos grups: l'estriat dorsal, compost per el nucli caudat i el putamen, i l'estriat ventral compost per el nucli accumbens i el tubercle olfatori (figura 10).

L'Acb representa la part més destacada de l'estriat ventral; una zona anatòmicament situada en la porció ventro-medial del caudat en el prosencéfal basal (Salgado i Kaplitt, 2015). Anatòmicament, l'Acb es divideix en dues parts: l'escorça (*shell*, AcbSh), que correspon a l'àrea ventromedial del nucli, i el centre (*core*, AcbCo), part dorsolateral del nucli (Herkenhan *et al.*, 1984; Jongen-Relo i Groenewegen, 1994). Aquestes divisions presenten diferències a nivell citoarquitectònic, in-

munohistoquímic (Záborszky *et al.*, 1985), i neuroquímic (Jongen-relo *et al.*, 1994; Voorn *et al.*, 1989; Zahm i Brog, 1992).

L'Acb esta constituït per cèl·lules espinoses GABAèrgiques, que projecten a altres nuclis, i interneurons que expressen receptors dopaminèrgics i glutamatèrgics (Meredith *et al.*, 1999 ; Floresco, 2015). Es tracta d'un nucli poc excitable donat que les seues neurones tenen poca capacitat de generar activació espontània. Per tant, els canvis d'activitat del nucli accumbens, depenen en gran mesura, dels imputs glutamatèrgics que reben dels lòbuls frontals i temporals (Floresco, 2015).

L'Acb rep denses aferències des d'EPFm (figura 11; Newman i Winans, 1980; Groenewegen *et al.*, 1982; McGeorge i Faull, 1989; Berendse *et al.*, 1992; Ding *et al.*, 2001; Vertes, 2004), implicades en una gran varietat de funcions cognitives, afectives i motivacionals (Floresco, 2015). En particular, les projeccions des de PL es donen tant sobre l'AcbSh com a l'AcbCo (Vertes, 2004), mentre que les d'IL es donen de manera més específica sobre el l'AcbSh (Berendse *et al.*, 1992; Vertes, 2004).

D'altra banda, l'Acb rep aferències aminèrgiques per part del tronc encèfal, les quals juguen un paper important en la modulació del flux d'informació (Deutch i Cameron, 1992). Aquestes projeccions poden ser diferents en funció del seu origen; dopaminèrgiques, corresponents a la pars compacta de la substància negra (Nauta *et al.*, 1978; Beckstead *et al.*, 1979) i àrea ventral tegmental (ATV; Wise i Rompre, 1989; Brady i O'Donnell, 2004), serotoninèrgiques, originades en RD (Bockstaele *et al.*, 1993) i noradrenèrgiques provinents del locus coeruleus (Carboni i Silvagni, 2004). Al mateix temps, el nucli accumbens envia projeccions GABAèrgiques al pàlid ventral i al nucli subtalàmic (Zahm i Heimer, 1993; Heimer *et al.*, 1991). L'Acb també envia projeccions a l'hipotàlem (Heime *et al.*, 1991; Zahm, 2000).

1.5.2.1 Funcions del nucli accumbens

L'Acb té una funció vital en els processos motivacionals i d'acció motora, rebent informació d'estructures límbiques i dirigint-les a àrees motores (Mogenson *et al.*, 1980; Floresco, 2015). Intervé a més en la selecció de l'acció i/o dels comportaments adequats participant en la generació de respostes adaptatives (Floresco, 2015).

Específicament, la part shell és la que rep projeccions glutamatèrgiques d'hipocamp i amígdala central i dopaminèrgiques fonamentalment per part d'ATV (Heimer *et al.*, 1991; Zahm i Heimer, 1993). Per tant, és considerat el principal lloc d'entrada d'informació al nucli, i amb se li atorguen paper crític en l'assignació del valor apetitiu o aversiu als estímuls. En canvi, l'AcbCo esta vinculat amb la generació de les conductes motores associades al valor de l'estímul (Salamone, 1992). L'Acb és un nucli extensament estudiat per la seua estreta relació amb les conductes motivades i de recompensa (Mogenson *et*

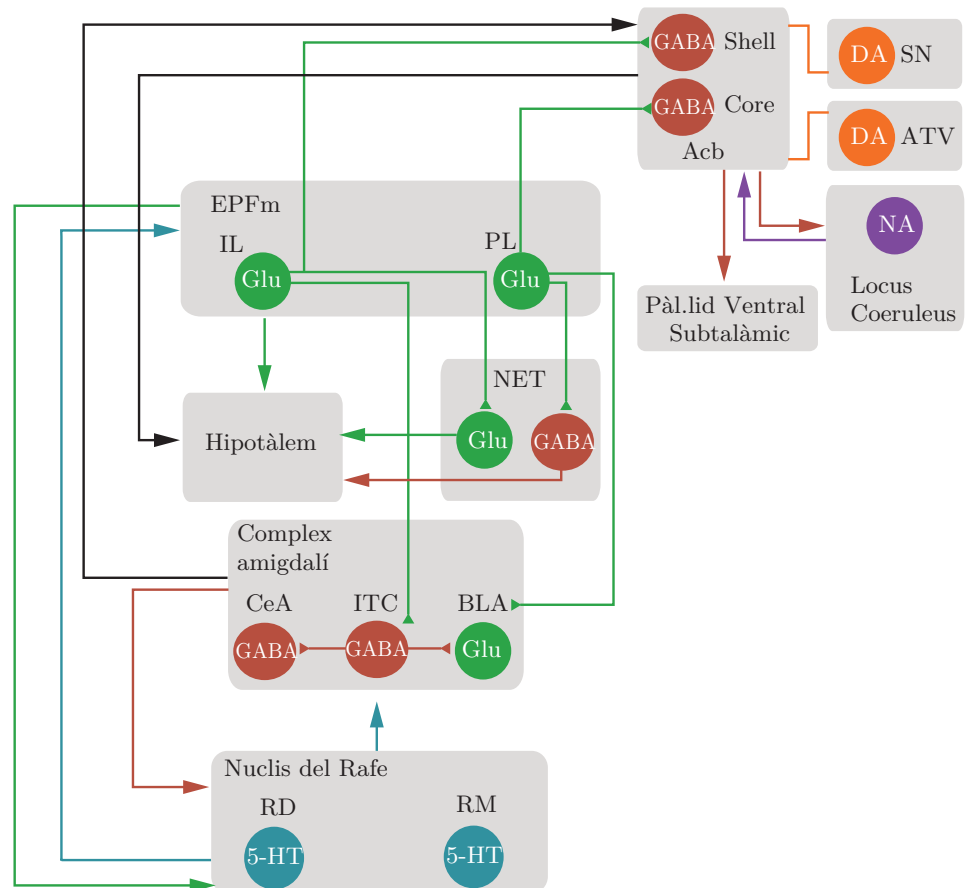


Figura 11: Connexions dels nuclis de la base amb les estructures del circuit de l'estrès. Verd: projeccions glutamatèrgiques (Glu); Roig: projeccions GABAèrgiques (GABA); Blau: projeccions serotoninèrgiques (5-HT); Taronja: projeccions Dopaminèrgiques (DA). Abreviatures: IL: escorça infralímbica; PL: escorça prelímbica; NET: nucli del jaç de l'estria terminal; CeA: nucli central de l'amígdala; ITC: cèl·lules intercalades de l'amígdala; BLA: nucli basolateral de l'amígdala; RD: rafe dorsal; RM: rafe medial.

al., 1980), com la ingesta (Maldonado-Izizarry *et al.*, 1995; Straford i Kelley *et al.*, 1997), conducta sexual (Pfaus *et al.*, 1990; Damsma *et al.*, 1992), consum de drogues (Kuhn *et al.*, 2011). La seua alteració està relacionada amb el desenvolupament de desordres afectius com l'anhedònia (Gorwood, 2008), la depressió, el trastorn obsessiu compulsiu (Floresco, 2015) i la manifestació de conductes impulsives (Basar *et al.*, 2010). Altres estudis han evidenciat que el dany de l'Acb impossibilita la consolidació d'un condicionament, tant en reforços naturals com en drogues d'abús (Cardinal *et al.*, 2002; Floresco, 2008).

1.5.3 *El nucli accumbens i l'estrès*

El sistema dopaminègic en el nucli accumbens està fortament vinculat a la resposta d'estrès. L'exposició a estrès hi produeix modulacions del flux dopaminèrgic (Abercrombie *et al.*, 1989; Imperato *et al.*, 1991; Puglisi-Allegra *et al.*, 1991; Doherty i Gratton, 1992) amb repercussions directes sobre el comportament (Cabib i Puglisi-Allegra, 2012).

Així, nivells alts de DA a l'Acb es relacionen amb la manifestació de conductes d'afrontament actives, a comportaments d'escapada o d'eliminació de la font d'estrès. Pel contrari, la inhibició de l'alliberament de DA al nucli accumbens, esta lligada a respostes passives (Cabib i Puglisi-Allegra, 2012).

També s'ha observat que l'exposició a estrès genera alteracions a llarg termini a l'Acb. S'ha vist que l'exposició a un estrès agut augmenta el flux dopaminèrgic a l'Acb, però si l'estrès es cronifica, llavors hi ha un efecte contraposat, disminuint dràsticament l'arribada de DA a l'Acb (Pascucci *et al.*, 2007). El mecanisme sembla ser que l'estrès agut, provoca un augment inicial de norepinefrina (NE) a l'EPFm amb un increment temporal de DA sobre l'Acb (Pascucci *et al.*, 2007). Si l'estrès és sostingut, i per tant també ho és l'alliberament de DA a l'EPFm, hi ha una forta inhibició del flux de DA sobre l'Acb (Feenstra *et al.*, 1998; Pascucci *et al.*, 2007). És important destacar que l'EPF sembla responsable de modular aquest flux de DA a l'Acb en respostes d'estrès (Feenstra *et al.*, 1998; Pascucci *et al.*, 2007).

1.5.4 *Mecanismes d'acció de l'estimulació cerebral profunda*

Malgrat el seu ús en la pràctica clínica, avui en dia encara s'està lluny de conèixer els mecanismes responsables de l'eficàcia terapèutica de l'ECP. Una de les hipòtesis plausibles és que el seu efecte duga a una lesió reversible, al bloqueig fisiològic o al silenciament neuronal per la similitud que presenta amb casos de lesions a diferents zones diàna (Deniau *et al.*, 2010). En aquesta línia s'ha proposat també que pugués generar una inhibició del nucli al qual s'aplica perquè origine l'activació del sistema inhibitori local (McIntyre i Hahn, 2010; Lozano i Lipsman, 2013). Altres dades, però, suggereixen que l'ECP provoca

augments de l'activitat del nucli estimulat (Maurice *et al.*, 2003; Miočević *et al.*, 2006). També s'ha vist que l'ECP augmenta la circulació sanguínia. Aquest fenomen es relaciona amb una major neurogènesi de l'àrea estimulada en malalts afectats de Parkinson (Sidtis *et al.*, 2012; Vedam-Mai *et al.*, 2012).

Altres teories proposen que l'ECP afectaria de manera específica la conducció axonal. Els axons són més excitables a altes freqüències que no els somes neuronals, per la qual cosa l'ECP podria originar activació de les fibres sense activació del propi cos cel·lular. Això comportaria que l'efecte podria donar-se tant sobre les aferències com sobre les eferències del nucli estimulat i, per tant, l'efecte net podria ser excitatori o inhibitori (Nowak i Bullier, 1998; McCracken i Grace, 2007; Ewing i Grace, 2013; Pierce i Vassoler, 2013). Així s'ha demostrat que l'ECP a altes freqüències de l'Acb genera la supressió de l'activitat neuronal en les eferències, a través de l'activació de les interneurons inhibidores i/o la inactivació dels processos despolaritzants (Benabid *et al.*, 1991; Rubio *et al.*, 1992). En particular, l'ECP a l'AcbCo provocaria la inhibició de l'escorça orbitofrontal a través de l'estimulació de les aferències antidròmiques corticoestriades i la posterior activació de interneurons inhibidores corticals (McCracken i Grace, 2007). Aquest mecanisme es proposa com a substrat neural pel qual l'ECP de l'Acb és efectiva en evitar processos com la recaiguda en el consum de drogues com ara l'heroïna, la cocaïna i l'alcohol (Pierce i Vassoler, 2013). D'acord amb aquesta idea, altres treballs indiquen que l'ECP en el *shell* disminueix la recaiguda en el consum de cocaïna mitjançant la via antidròmica perquè activarien les interneurons d'IL (Vassoler, 2008; Pierce i Vassoler, 2013).

1.5.5 *L'estimulació cerebral profunda com a regulador del circuit*

Siga quin siga el mecanisme concret, les visions més modernes sobre l'efecte terapèutic de l'ECP consideren que aquest està relacionat amb la seua capacitat de modular la sincronització neuronal i la coherència de l'activitat oscil·latòria entre les eferències i circuits neuronals implicats en l'alteració (McCracken i Grace, 2009; Ewing i Grace, 2013). Ja *et al.* (1991) i Benabid *et al.* (1991) proposaren que l'ECP modifica els patrons de descàrrega neuronal del circuit. Per tant, l'ECP actuaria en la regulació i el reajust dels patrons d'activitat neuronal, generant un estat oscil·latori "optimitzat", no necessàriament semblant al que predominava abans de l'oscil·lació patològica (McIntyre i Hahn, 2011).

Per tant, a partir d'aquesta concepció de circuit, es planteja una nova perspectiva d'anàlisi de les malalties mentals, que proposa la cerca i anàlisi de patrons oscil·latoris aberrants associats a estats patològics que puguin constituir el substrat funcional de la patologia i per tant possible diana d'acció de l'ECP. Així, s'ha comprovat que en malalts de Parkinson, l'ECP provoca un canvi en la freqüència i el pa-

tró aberrant de l'activitat individual de les neurones dels circuits dels nuclis de la base (Wichmann *et al.*, 2011) i elimina l'oscil·lació rítmica anormal entre l'escorça i els nuclis basals pròpia d'aquesta patologia (Brown *et al.*, 2004). A més, en el context de les drogodependències, s'ha descrit que l'aplicació d'ECP a l'Acb genera una normalització de l'activitat cortical-accumbens atenuant la recaiguda en consum de cocaïna (Schmidt i Pierce, 2010). Cal destacar, per últim, que els efectes de l'ECP es centren sobre símptomes patològics, però no alteren processos normals vinculats als reforços naturals com la ingesta (per a revisió, Lozano i Lipsman, 2013). Aquest fet incrementa el valor terapèutic de l'ECP com a ferramenta centrada en la intervenció específica en l'activitat neuronal aberrant i les oscil·lacions disruptives (review Lozano i Lipsman, 2013).

En conclusió, l'ECP és una tècnica prometedora en el tractament de malalties psiquiàtriques. Així i tot, queden per conèixer els mecanismes pels quals té efecte terapèutic.

HIPÒTESIS I OBJECTIUS

A la introducció hem explicat l'interés que suscita l'estudi del circuit de l'estrès. Hem descrit com, malgrat ser un procés adaptatiu, podria resultar perjudicial si la resposta generada no és adequadament controlada. De les diferents estructures que conformen la xarxa que regula l'estrès, hem explicat com l'amígdala té un paper molt important en la generació de la resposta d'estrès. D'entre les seues diferents divisions, el nucli central és el que té un paper més rellevant com a activador d'aquesta resposta. A més, també hem explicat la implicació de l'EPFm en el circuit. D'entre les seues divisions, la part infralímbica, o IL, malgrat activar l'eix HHA, està connectada amb CeA sobre la que pot exercir un paper inhibitor. Per tant, IL podria participar de la atenuació de l'activitat de CeA per a modular la resposta d'estrès. A més a més, també hem explicat com el nucli dorsal del rafe, que també s'activa front a l'exposició a un estressor, manté projeccions amb aquestes dues estructures, i, per tant, pot exercir un paper modulador en la seua interacció.

Per altra banda, també hem argumentat la utilitat d'abordar l'estudi dels circuits a través de l'anàlisi de l'activitat elèctrica poblacional dels nuclis implicats.

Per tot això, en la primera part de la tesi ens proposem aprofundir en la interacció entre CeA, IL i RD mitjançant tècniques electrofisiològiques. En concret, pretenem estudiar com canvia l'activitat oscil·latòria d'IL quan s'activa CeA en resposta a un estressor. Els canvis fisiològics observats a IL podrien representar el substrat pel qual IL participara del control de la resposta d'estrès i, per tant, de l'activitat de CeA. A més a més, també volem analitzar el paper que hi pot jugar el RD en aquesta interacció. De tot això, se'n deriven les hipòtesis i els objectius:

- PRIMERA HIPÒTESI: L'activació de CeA induirà un canvi a l'activitat elèctrica poblacional d'IL.
- OBJECTIU 1: Analitzar l'activitat elèctrica poblacional a IL després de provocar un estrès agut per activació de CeA. Com a model de generació de l'estrès fem servir el protocol d'estimulació elèctrica.
- SEGONA HIPÒTESI: L'activitat del nucli dorsal del rafe serà necessària perquè l'activació de CeA pugui modificar el patró oscil·latori d'IL.
- OBJECTIU 2: Comprovar si l'activitat del RD és necessària perquè es donen a IL els canvis descrits en abordar l'Objectiu 1.

Amb aquest objectiu estudiarem l'activitat d'IL en activar CeA, però ara inhibint RD.

En segon lloc, també hem explicat a la Introducció en què consisteix l'estimulació cerebral profunda al nucli accumbens *core* i els avantatges terapèutics que aporta aquesta tècnica en el tractament de malalties psiquiàtriques relacionades amb l'estrès. També hem descrit que avui en dia encara hi ha moltes llacunes sobre quin és el mecanisme concret pel qual aquesta tècnica és efectiva, però que les teories més modernes apunten cap a un efecte normalitzador de l'activitat elèctrica de les àrees implicades en el circuit alterat en la patologia.

Per això, en la segona part de la tesi ens centrem en l'estudi dels canvis electrofisiològics que origina aquesta estimulació sobre IL. Pensem que la comparació dels resultats obtinguts en aquesta part amb els obtinguts als primers experiments podrien facilitar la comprensió dels mecanismes pels quals l'ECP és efectiva en trastorns relacionats amb l'estrès.

Partim de la nostra tercera hipòtesi és:

- TERCERA HIPÒTESI: L'ECP de l'AcbCo originarà canvis a l'activitat elèctrica poblacional d'IL. Aquests canvis podrien relacionar-se amb els observats al primer del experiments i potser es puguin relacionar amb la intervenció d'IL en l'ajust de la resposta d'estrès.

Per això plantegem:

- OBJECTIU 3: Estudiar l'activitat elèctrica poblacional a IL després de realitzar una ECP al *core* del nucli Acb.

MATERIAL I MÈTODES

3.1 ASPECTES GENERALS

Els estudis que es descriuen a continuació s'han dissenyat per avaluar l'activitat de l'escorça infralímbica mitjançant la seua caracterització electrofisiològica, en diverses situacions experimentals. Tots els experiments s'han realitzat en rata anestesiada amb uretà. L'activitat neuronal s'ha mesurat mitjançant el registre del potencial de camp (en anglés, Local Field Potential o LFP), amb la implantació d'elèctrodes intracerebrals. Els registres LFP obtinguts són observats *on-line* durant la pròpia cirurgia, tot i que són analitzats amb detall *off-line*, amb el software MATLAB (MathWorks inc.).

En les properes seccions explicarem els detalls de les cirurgies i l'anàlisi de dades. Començarem per explicar aspectes generals de la metodologia emprada a tots els experiments, i a continuació descriurem el disseny detallat de cada grup experimental.

3.2 ANIMALS EXPERIMENTALS

Per als procediments experimentals es es va fer ús de rates femelles adultes Sprague-Dawley (Blackthorn, Bicester, Regne Unit) amb un pes comprès entre 200 i 250 g. En tot cas es compliren les normes per a la bona pràctica amb animals d'experimentació de la directiva Europea per a la protecció animal d'ús científic (2010/63) i es disposà de l'aprovació del comitè d'Ètica i Benestar Animal de la Universitat de València. Durant l'estabulació al laboratori, els animals es mantien amb un cicle de llum/fosc de 12 hores i amb una temperatura controlada de (23 °C ± 3 °C). A més, tots els exemplars tenien accés a menjar i aigua *ad libitum*. Degut a la toxicitat crònica de l'anestèsic utilitzat per al registre electrofisiològic, posteriorment a la realització dels experiments tots els animals van ser sacrificats mitjançant pentobarbital sòdic administrat de manera intraperitoneal.

3.3 CIRURGIA

Els estudis de registre electrofisiològic es realitzaren sota anestèsia amb uretà (1.5 kg, i.p.). L'uretà és un anestèsic adequat per a l'estudi electrofisiològic donat que, malgrat els seus efectes adversos, permet una anestèsia útil per a la cirurgia, sense interferir en la mesura de l'activitat elèctrica cerebral (Maggi i Meli, 1986). Actua com a agent dissociatiu, com la ketamina, a diferència de l'efecte dels anestèsic ge-

nerals com el pentobarbital o l'isofluorà. Sota aquest tipus d'anestèsia, l'animal pot mantindre l'activitat elèctrica neuronal i estar completament anestesià al mateix temps.

L'anestèsia amb uretà tarda una mitjana de 30-40min en fer efecte, durant els quals, s'avalua el reflex pupil·lar i pedi abans de començar la intervenció. Una vegada l'animal estigués anestesià, i sense presentar reflexes de cap tipus, es procedia a col·locar—li un adaptador estereotàxic (SR-6R, Narishige, Japó). Durant tota la cirurgia, la temperatura corporal de l'animal es mantenia a 37 °C, mitjançant un coixí d'escalfament isotèrmic.

Una vegada l'animal estava situat al quadre estereotàxic i anestesià adequadament, es realitzava una incisió longitudinal medial de la pell del cap i es retirava el periosti cranial amb l'ajuda d'una espàtula de dentista. Quan les sutures cranials ja eren visibles, es preniën les coordenades dels punts bregma i lambda així com dels punts laterals equidistants corregint la posició del crani fins que s'aconseguia una alineació horitzontal.

Les coordenades de les diferents estructures cerebrals objectes d'estudi, es van obtindre mitjançant l'Atlas estereotàxic de Paxinos i Watson (2004). Les coordenades teòriques per a cada nucli es descriuen en la taula 1

	Antero-posterior	Lateral	Dorso-Ventral
IL	3.2 mm	0.6 mm	5.0 mm
CeA	-2.5 mm	4.5 mm	7.8 mm
RD	-7.8 mm	0.0 mm	6.5 mm
AcbCo	1.2 mm	1.2 mm	7.4 mm

Taula 1: Coordenades extereotàxiques d'acord amb el atlas de Paxinos i Watson (1998)

Aquestes coordenades, però, variaven segons l'animal, donat que les coordenades teòriques obtingudes a l'atles estan referides per a cranis amb una distància bregma-lambda de 9 mm. Per tant, per augmentar la precisió a nivell individual i evitar així la variabilitat entre exemplars es va aplicar un factor de correcció en el què es dividia la distància entre bregma i interaural de cada exemplar per la mesura estàndard de 9 mm. Finalment, la dada obtinguda es multiplicava per les coordenades obtingudes en l'atles.

Una vegada marcades les coordenades rectificades al crani es procedia a trepanar l'os als punts assenyalats, amb la posterior perforació de les meninges. A continuació, per inserir els elèctrodes a les coordenades de profunditat corresponents, es preniën mesures respecte a la superfície del crani mitjançant un braç estereotàxic d'alta precisió. Una vegada posicionats els elèctrodes a les coordenades pertinents,

eren fixats amb resina polimèrica (Rapid Repair, Dentsply International) al crani de l'animal.

Durant les cirurgies s'utilitzaren diferents tipus de fàrmacs per minimitzar el dolor de l'animal. D'una banda, s'injectava lidocaïna subcutània com anestèsic local (0.2 mL) abans de fer la incisió. A més a més, també s'injectava fentanil intraperitoneal, un analgèsic opioide (0.01 mg kg^{-1} , i.p.), previ a la trepanació cranial.

3.4 MÈTODES DE L'ELECTROFISIOLOGIA

Els elèctrodes eren maufacturats com a cable d'acer inoxidable de $120 \mu\text{m}$ de diàmetre i recobert de *formvar* (World Precision Instruments). En relació als elèctrodes de registre, de caràcter monopolar, constaven d'un fragment de longitud variable segons la profunditat de la coordenada diana. Es retirava el formvar d'ambdós extrems i per tant facilitar la conducció elèctrica oportuna. Per l'extrem en contacte amb el cervell es retirava el recobriment aïllant al voltant d'1 mm. Per l'altre extrem de l'elèctrode es llevava el recobriment aproximadament 5 mm on colocar el contacte de registre. Com a elèctrodes d'estimulació s'utilitzaren electrodes bipolars d'acer inoxidable recobert de formvar de $120 \mu\text{m}$ de diàmetre.

3.4.1 *Registre de l'activitat del potencial de camp*

La mesura del potencial de camp (*local field potential* o LFP) prové de l'activitat elèctrica d'una població neuronal local. Aquesta mesura conté les fluctuacions de voltatge extracel·lular de baixa freqüència. Els LFP es componen de corrents elèctrics a les que contribueixen tant els potencials d'acció de les neurones properes, com els potencials postsinàptics aferents, essent aquests últims els de major pes als potencials de camp. El registre del potencial de camp extracel·lular captat, mostra un senyal filtrat que disminueix en amplitud amb la distància. Els senyal enregistrat depen de les impedàncies del medi extracel·lular i del propi elèctrode.

Per tal d'evitar la intrusió de soroll extern s'utilitzaren elèctrodes de terra sobre l'animal i l'aparell estereotàxic. A més a més, es va fer ús de una jaula de Faraday per completar el muntatge d'adquisició.

Els registres LFP van ser amplificats pel pas per un preamplificador (P55, GRASS Technologies) i un amplificador (Cibertec), un total de 1000 vegades. El senyal va estar filtrat entre 0.3 i 300 Hz i adquirida a 200 Hz de mostreig. Els senyals resultants es van filtrats digitalment mitjançant el filtre de supressió del soroll de corrent alterna (50 Hz), de tipus Butterworth al voltant de $50 \pm 3 \text{ Hz}$, i aplicat en ambdós direccions per eliminar les distorsions de fase.

El senyal definitiu es convertí en senyal digital per una unitat d'adquisició (CED Micro 1401; Cambridge Electronics Design, UK), con-

nectada a l'ordinador i amb l'ús del software Spike2 (Cambridge Electronics Design, UK). El programari ens va permetre visualitzar el registre *on-line*.

3.4.2 Estimulació elèctrica de CeA

Per generar l'estimulació elèctrica de CeA l'elèctrode es connectava a un generador de polsos rectangulars (S48; GRASS Technologies; Warwick, USA) acoblat a una unitat fixadora del voltatge (SIU5-RF; GRASS Technologies). El generador de polsos es connectava també al sistema d'adquisició per a obtenir els registres dels estímuls aplicats. Els paràmetres que s'utilitzaven per a estimular elèctricament CeA van ser polsos de 5 Hz, amb una durada de 0.2 ms i amb una intensitat de 800 μ A. Aquests paràmetres estan basats en els descrits per Forster *et al.* (2008), validats com a paràmetres que reproduïen la resposta d'estrès per immobilització (Henke, 1983; Sinton, 2000).

3.4.3 Estimulació cerebral profunda

Els paràmetres que es van fer servir per realitzar l'estimulació d'alta freqüència bilateral sobre el *core* del nucli accumbens són: 130 Hz, durant 60 ms a 50 μ A. Aquests valors corresponen amb els emprats habitualment en la pràctica clínica. L'elèctrode es connectava, de manera similar al descrit per a la estimulació de CeA, a l'estimulador S48 acoblats la unitat SIU5-RF.

3.5 PERFUSIÓ I PROCESSAT DEL CERVELL

3.5.1 Perfusió

Una vegada finalitzat cada registre, es sacrificaven als animals per sobredosi de pentobarbital sòdic (0.5 mm i.p.; Vortech, Dearborn, MI, EE.UU.). Seguidament, eren perfosos mitjançant un abordatge intracardíac, accedint pel ventricle esquerre fins arribar a l'aorta ascendent, amb implantació de cànula d'1 mm de diàmetre. Posteriorment, es feia una incisió a l'aurícula esquerra per a facilitar el drenatge de perfusió. Finalment, una vegada posicionada la cànula, es connectava la bomba de perfusió (PERCOM N-M; J.P.Selecta, Barcelona) a un flux constant de 30 mL min⁻¹.

Els líquids utilitzats per a realitzar la perfusió van ser 500 mm de sèrum salí isotònic (0.9%) i solució fixadora de paraformaldeïd (PFA) al 4%, 500 mm (Sigma-Aldrich; St. Louis, USA) en tampó fosfat (0.1 M, pH 7.4). Una vegada finalitzada la perfusió, es va extraure el cervell conservant-lo en nevera amb post-fixació amb PFA 4% un temps de 24 h. Com a mesura crioprotectora el teixit es va mantindre en sacarina al 30% en PBS un total de 48 h.

3.5.2 *Microtomia*

Es va utilitzar la microtomia de congelació (SM2000R; Leica Biosystems; Wetzlar, Alemanya) com a mètode tall histològic. El cervell es col·locava a la pletina del micròtom a una temperatura de -30°C en solució de PBS sacarosa al 30%. Les seccions es van obtenir com talls coronals de $40\ \mu\text{m}$ distribuïts en sis sèries paral·leles conservades en PBS-azida (0.2 M, pH 7.4).

3.5.3 *Tinció histològica*

Amb l'objectiu de poder determinar la ubicació dels elèctrodes es va realitzar una tinció citoarquitectònica de tipus Giemsa. Els talls muntats en els portaobjectes eren submergits 2 min en etanol 96° , 2 min en etanol 70° , i per rehidratar-los, 2 min en aigua bidestil·lada. Seguidament, rebien un bany de KH_2PO_4 a 50°C durant 3 min i introduïts en una dissolució 1/10 de la solució de Giemsa a 60°C 10 min en agitació. Després d'aquest procés, els talls s'aclarien un parell de vegades amb aigua bidestil·lada, on tot seguit es van submergir en KH_2PO_4 a temperatura ambient, de nou en agitació durant 3 períodes de 5 min.

Per últim, els talls eren deshidratats mitjançant banys d'etanol a concentracions creixents. Per últim van ser aclarits en xilè i coberts amb DPX (Merck; Darmstadt, Alemanya).

3.5.4 *Visualització de la col·locació d'elèctrodes*

La ubicació histològica dels punts de registre es comprova per microscopia òptica (Nikon Eclipse E600, Nikon, Tokio, Japó). Per corroborar les coordenades precises, ferem servir l'Atlas estereotàxic de Paxinos i Watson (2004) (figura 12). Els exemplars que van mostrar un desplaçament dels elèctrodes van ser rebutjats. L'adquisició de les imatges fou mitjançant una càmera Nikon DMX-2000 adjunta al microscopi i enviada a un PC equipat amb el programari d'adquisició ACT-1 (Nikon).

3.6 DISSENY EXPERIMENTAL

3.6.1 *Experiment 1: estudi de l'efecte de l'estimulació elèctrica de CeA sobre l'activitat oscil·latòria de l'escorça infralímbica. ($n = 11$)*

Aquest experiment es va dissenyar per abordar el primer dels nostres objectius: analitzar l'activitat elèctrica a l'escorça infralímbica després d'activar el nucli central de l'amígdala. Així, pretenem comprovar la hipòtesi de que la generació d'un estrés ha de canviar el patró oscil·latori de la regió de l'escorça infralímbica. Amb aquest objectiu,

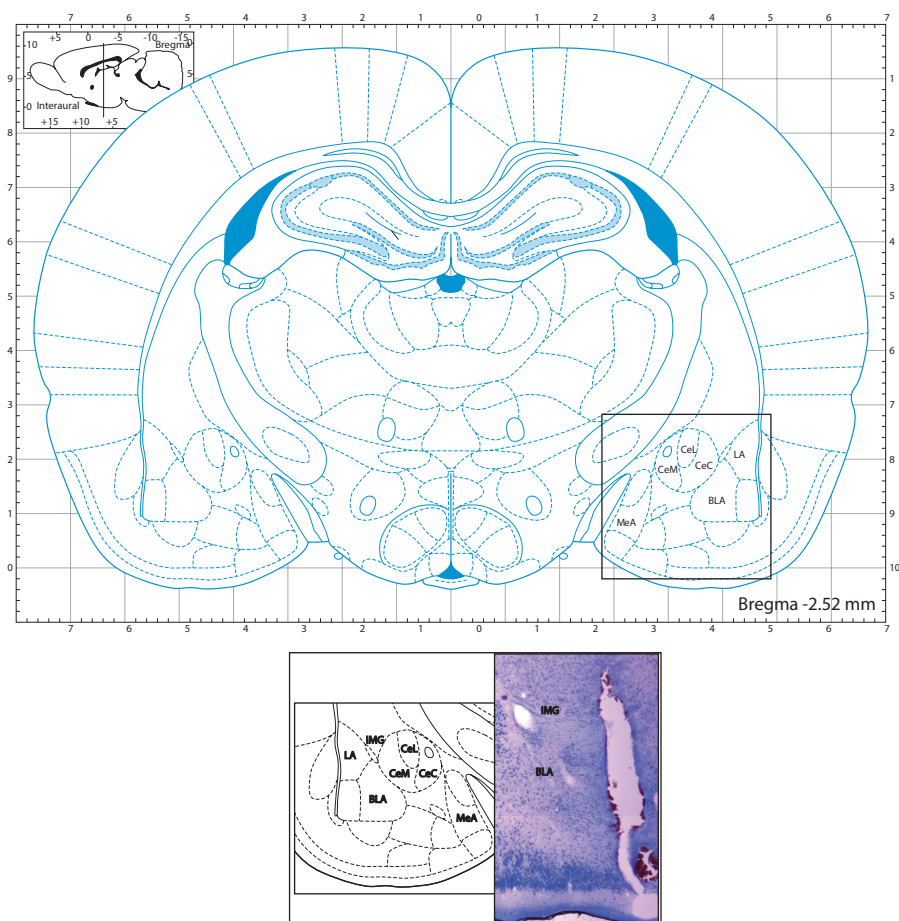


Figura 12: Localització dels elèctrodes d'estimulació elèctrica de CeA. Esquerra, esquema del nivell AP de l'atles de Paxinos i Watson del 2004. Dreta: imatge a 10x d'un tall representatiu on s'observa la lesió ocasionada per l'elèctrode implantat a CeA.

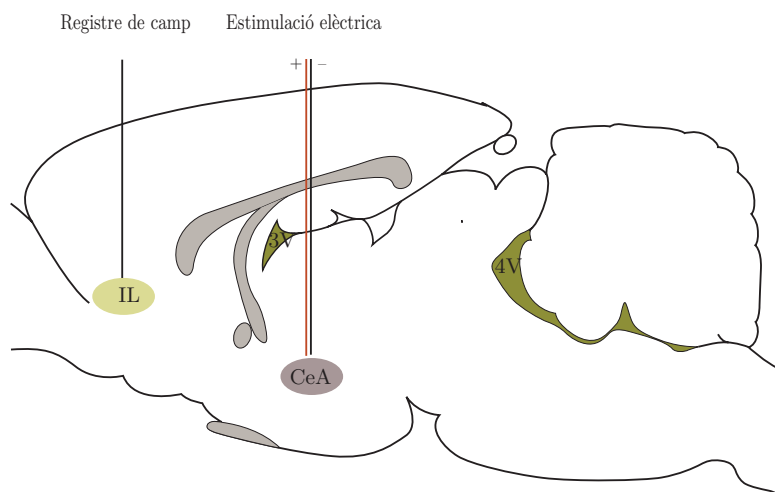


Figura 13: Localització dels elèctrodes a l'Experiment 1. Elèctrode de registre a IL de l'hemisferi esquerre, elèctrode d'estimulació a CeA de l'hemisferi esquerre.

s'implantà un elèctrode de registre a l'IL de l'hemisferi esquerre i un d'estimulació a CeA també a l'hemisferi esquerre (figura 13).

L'experiment començà amb el registre del potencial de camp de l'activitat basal d'IL durant 300 s, seguit de 200 s d'estimulació elèctrica de CeA a polsos de 5 Hz, 0.2 ms i 800 μ A (paràmetres adaptats del l'estudi de Forster *et al.*, 2008), validats com a paràmetres que reproduïen la resposta d'estrès per immobilització (Henke, 1983; Sinton, 2000). Una vegada finalitzada l'estimulació és manté el registre durant 6000 s més, on es va obtenir la resposta de EPFm davant l'estimulació de CeA. Aquest procediment es va realitzar en 11 animals, que constitueixen el grup experimental.

A més, en altres 4 animals, implantarem elèctrode de registre a IL esquerra i d'estimulació a CeA esquerra, però no hi férem passar corrent a través. D'aquesta manera, tenim un grup control (sham) d'animals. Amb les dades d'aquests animals podem garantir que els resultats obtinguts en el grup experimental es deuen específicament a l'activació elèctrica de CeA i no a la mera implantació de l'elèctrode.

En aquest experiment s'utilitzaren un total de 18 exemplars amb 7 descartats.

3.6.2 *Experiment 2: estudi del paper del nucli dorsal del rafe als canvis originats al patró oscil·latori d'IL per l'activació de CeA.* ($n = 6$)

Amb aquest experiment pretenem comprovar si els canvis observats a l'LFP d'IL com a conseqüència d'estimular CeA requereixen de l'activitat del RD. Per tant, respondríem al segon dels objectius de la Tesi. Amb aquesta intenció, el disseny experimental replicà el de l'experiment anterior, però afegint un pas, que consisteix en inactivar el nucli

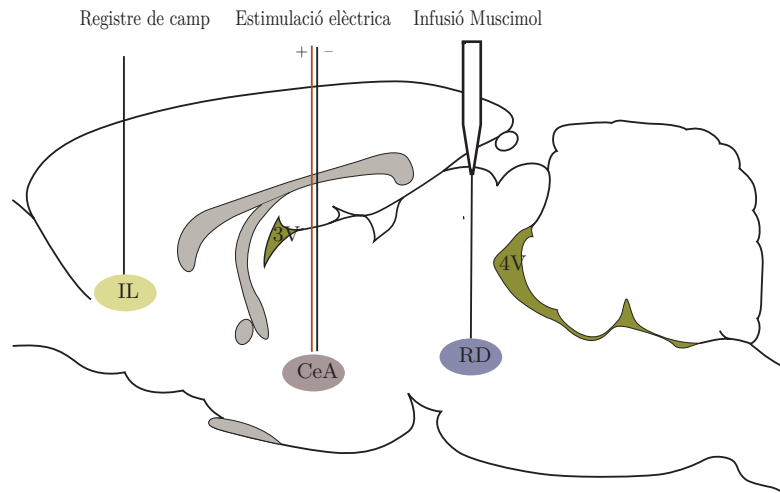


Figura 14: Localització dels elèctrodes a l'Experiment 2. Elèctrode de registre a IL de l'hemisferi esquerre, elèctrode d'estimulació a CeA de l'hemisferi esquerre, cànula per a la injecció de muscimol a RD.

del rafe dorsal. Com ja hem descrit al RD hi ha dos tipus fonamentals de cèl·lules, serotoninèrgiques i GABAèrgiques. Aquestes segones inhibeixen a les serotoninèrgiques, que són cèl·lules de projecció (Steinbusch i Niewenhuys, 1983). En concret, la inactivació del RD que portarem a terme consisteix en un bloqueig farmacològic mitjançant la injecció local d'un agonista dels receptors de $GABA_A$, el muscimol. Per tant, aquesta injecció afavoriria l'activitat de les cèl·lules GABAèrgiques del nucli, inhibint així l'output serotoninèrgic.

Amb aquest objectiu a aquest experiment implantem un elèctrode de registre a l'IL esquerra i un d'estimulació a CeA esquerra, com a l'experiment anterior; però a més, en aquesta cas, també implantem una cànula de sílice (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, EE.UU) al RD (figura 14) per a la infusió de muscimol.

En aquest experiment s'utilitzaren un total de 13 exemplars amb 5 descartats.

L'experiment comença amb un registre control de 300 s, seguit de l'estimulació de CeA (200 s). A continuació es porta a terme la injecció de muscimol a RD amb un volum de $0.5 \mu\text{L}$ ($25 \text{ ng}/0.25 \mu\text{L}$; Sigma). La infusió es realitzava mitjançant una cànula de borosilicat vinculat a un tub de polietilè (PE 20) connectat a una micro xeringa 1.0 mL unida a una bomba PE20, i amb una velocitat d'infusió de 0.1 mL min^{-1} (Forster i Blaha, 2000). Per tant, la infusió durà 5 min. El registre es mantingué 6000 s més per comprovar-ne l'efecte.

Com explicarem més endavant, els resultats de l'experiment 1 indicaren que l'estimulació de CeA induïa un canvi en l'LFP d'IL amb un retard $>30 \text{ min}$. Aquest canvi consistia fonamentalment en un increment substancial de la potència de l'ona lenta, per davall d'1.5 Hz. Per tant, durant la realització dels registres de l'experiment 2, la in-

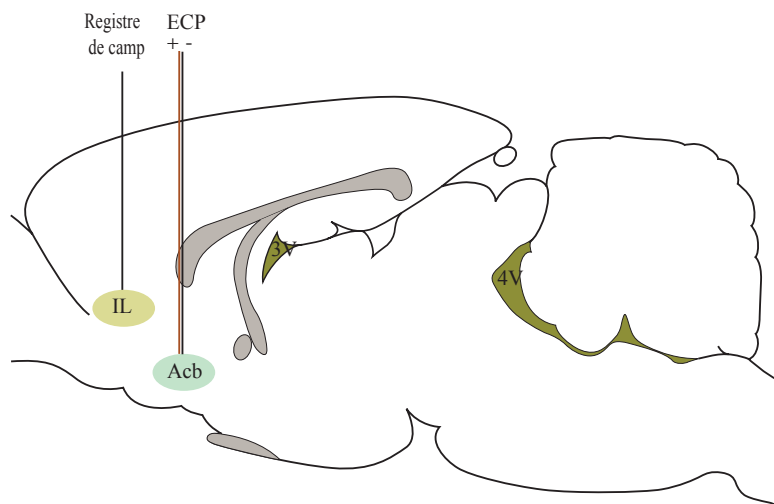


Figura 15: Localització dels elèctrodes a l'Experiment 3. Elèctrode de registre a IL de l'hemisferi esquerre, elèctrode d'estimulació bilateral a Acb.

jecció de muscimol es realitzava en cada animal quan s'observava un increment significatiu de l'activitat lenta a IL. Per a poder observar aquest canvi, durant el registre, a més dels canals que permeten la visualització *on-line* de l'activitat de les regions registrades, es generarà un canal virtual, recalculat del canal d'IL original. Aquest canal mostrava la proporció d'ona lenta.

En aquest experiment s'utilitzaren un total de 10 exemplars amb 4 descartats.

3.6.3 Experiment 3: Estudi dels efectes de l'aplicació de l'estimulació cerebral profunda al core del nucli accumbens sobre l'activitat oscil·latòria d'IL. ($n = 6$)

Per últim, amb aquest experiment avaluem els efectes sobre l'activitat del potencial de camp de les poblacions neuronals d'IL amb l'estimulació cerebral profunda (ECP) del *core* del nucli accumbens. Amb aquest objectiu implantem un elèctrode de registre a IL i dos d'estimulació al AcbCo dels dos hemisferis, és a dir, amb l'estimulació bilateral (figura 15).

Per tant, fem un registre control de 300 s, i portem a terme l'estimulació a altes freqüències de l'AcbCo durant 5 min. Els paràmetres utilitzats són els que es fan servir de manera habitual en la pràctica clínica, que consisteixen en polsos de 130 Hz, 60 msi 50 μ A. A continuació, mantenim el registre durant 90 min per observar-ne els canvis.

En aquest experiment s'utilitzaren un total de 12 exemplars amb 6 descartats.

3.7 ANÀLISI DE DADES

Totes les anàlisis d'aquest treball es van realitzar *off-line* dintre de l'entorn MATLAB[®] R2015b (The MathWorks, Natick, MA, EUA), utilitzant rutines pròpies adaptades a les nostres dades i anàlisis. En primer lloc, i amb el propòsit de reduir la carrega computacional, es reduí el mostreig dels registres dels potencials de camp a 200 Hz i a més es filtraren entre 1 i 100 Hz, banda màxima d'anàlisi. A més, als senyals resultants se'ls aplicà un filtre Butterworth en la banda 47 – 53 Hz com a mesura per eliminar el soroll de línia, i aplicat en les direccions d'avanç i retrocés per tal d'eliminar distorsions de fase. Tots els senyals es van normalitzar per aconseguir valors de potencial de mitjana 0 i desviació standar 1 (normalització de tipus *z-score*).

3.7.1 Anàlisi de senyals

Els registres s'anàlitzaren atenent a diferents mètodes de processament de senyals, segons les característiques a extraure en cada cas.

3.7.2 Anàlisi de Fourier

Els components de freqüència dels senyals LFP es van calcular utilitzant la transformada ràpida de Fourier (FFT) com una primera aproximació. En termes generals, l'activitat oscil·latria pot ser considerada com a la suma de diferents ones sinusoidals de diferents freqüències i amplituds (figura 16). Els mètodes de Fourier permeten descomposar el senyal original en els seus components sinusoidals i per tant representar la potència o energia de cada component en el domini de les freqüències. L'estimació de la densitat espectral de les potències es realitza mitjançant el mètode de *Welch*, amb un 50% de solapament amb la finestra *Hanning* de 2s). La resolució de l'estimació espectral va ser de 0.2 Hz. Les activitats de camp van ser classificades per bandes de freqüència seguint criteris extesos en la literatura: les oscil·lacions lentes (SW, <1.5 Hz), delta (1.5 – 3 Hz), theta (3 – 10 Hz) i beta (10 – 30 Hz). De l'anàlisi de Fourier s'extrau la potència per a una banda de freqüències com a la integral en el domini de la freqüència. Per quantificar l'activitat oscil·latria s'utilitzaren dos criteris: la *potència absoluta* de la banda i la *potència normalitzada* de les diferents bandes de freqüència. Aquesta última es calculà com la potència d'una banda de freqüències quan es compara amb la potència total de rang de freqüències complet (freqüència de Nyquist) per a cada tram del senyal.

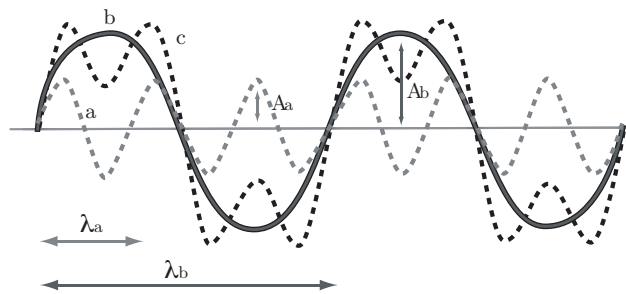


Figura 16: Superposició d'ones. Atenent al criteri de Fourier, el senyal de l'EEG (exemplificada en c) està composta per ones sinusoidals (a i b) de diferents freqüències ($1/\lambda$) i amplituds (A)

3.7.3 Anàlisi wavelet

Les sèries temporals es van analitzar en el domini temps-freqüència fent ús de la transformada wavelet contínua, tal i com descriu Torrence i Compo (1998). Cada senyal es convoluciona amb la wavelet de Morlet complexa definida com:

$$\psi_0(\eta) = \pi^{-1/4} e^{i\omega_0\eta} e^{-\eta^2/2}$$

on ω_0 és la freqüència central. Aquí, $\omega_0 = 6$ és un valor òptim per a l'ajust de la resolució de temps-freqüència (Farge, 1992). La transformada wavelet contínua, $W(s)$, es defineix com la convolució del senyal analitzat amb una versió a escala i desplaçada de la funció wavelet, $\psi_0(\eta)$. La potència del senyal en cada escala s (freqüència) es va definir com el mòdul del senyal complexa resultant, $|W(s)|^2$. A partir de la transformada wavelet també podem extreure l'amplitud, $|W(s)|$. Els valors de potència es van normalitzar a escala, $s^{-1}|W(s)|^2$ (Liu et al, 2007), per tal d'evitar efectes d'escala. Com a representació final, s'extragueren els espectrograms wavelets com a una representació del contingut espectral en el domini temps-freqüència. Es tracta, per tant, d'incorporar la variable temporal a l'anàlisi espectral

Aprofitant aquest tret, determinarem a partir dels espectrograms wavelets el temps de dominància d'una banda de freqüències particular. Concretament identificarem les regions a partir de les isolínies dels espectrograms on la potència superés un llindar, el nostre cas el tercer quartil de la distribució de potències wavelet.

3.7.4 Acoblament amplitud-fase

En aquest apartat, preteníem determinar si els diferents components espectrals d'un senyal estan acoblats entre si. És a dir, si un senyal de freqüència més baixa té acoblades oscil·lacions més ràpides en alguna de les fases, direm que hi ha un acoblament entre ambdós freqüències en el mateix senyal. En aquesta ocasió, determinarem si

l'amplitud de la freqüència ràpida se situa en alguna fase preferent de la oscil·lació lenta.

Nosaltres avaluàrem aquest tret mitjançant l'índex de modulació o MI (Tort *et al.*, 2010). En general, les dades en brut es filtren en els dos rangs de freqüència d'interès per tal de separar els components. MI és una mesura normalitzada que reflecteix el grau d'acoblament entre l'amplitud instantània del senyal d'oscil·lació més ràpida amb la fase d'un cicle de l'ona més lenta. Per extraure la fase i l'amplitud instantànies férem ús de la transformada de Hilbert. En el cas d'acoblament d'amplitud-fase entre els dos components filtrats, la distribució d'amplitud en les diferents fases no és uniforme, marcant una fase preferent per a les amplituds majors. EL valor de l'MI es defineix com una mesura de la desviació respecte de la distribució uniforme atenent a la distància Kullback-Leibler (Kullback i Leibler, 1951). L'MI assumeix valors normalitzats entre 0 i 1. El MI va ser considerat estadísticament significatiu si el seu valor fos $> 2SD$ la mitjana dels valors MI, calculats de a partir de 200 permutacions aleatòries de la distribució de les amplituds.

3.7.5 Anàlisi estadística

Les comparacions estadístiques es van realitzar mitjançant proves paramètriques o no paramètriques, després de comprovar els supòsits de normalitat (test de Shapiro-Wilks; $p < 0.05$ per rebutjar) i l'homogeneïtat de la variància (test de Levene, $p < 0.05$ per rebutjar). Les dades per a cada variable es van analitzar mitjançant l'anàlisi de la variància amb mesures repetides (ANOVA), com a mètode paramètric, o test de Friedman per al cas no paramètric. Quan fos apropiat, la comparança grupal va ser seguida per l'anàlisi *post-hoc* per parelles ajustada amb la correcció de Bonferroni, o pel test de Dunne, quan la comparança es feia respecte dels valors basals (veure Resultats per detalls de l'anàlisi de cada experiment).

El llindar de significació es va fixar en 95% ($p < 0.05$) o 99% ($p < 0.01$, per al valor doble significatiu). Totes les dades s'expressen com a mitjana \pm error standard de la mitjana (sem). Totes les anàlisis es van realitzar utilitzant el paquet de programari SPSS 12.0.1.

RESULTATS

4.1 ASPECTES GENERALS

L'estudi descrit en el present treball aborda la caracterització de l'activitat neural de l'escorça prefrontal en un model d'estrès agut amb la intenció última de comprendre el paper que aquesta àrea cortical juga en el control de l'activació amigdalina. Nosaltres hem triat com a model experimental d'estrès agut l'estimulació elèctrica del nucli central de l'amígdala, seguint els paràmetres proposats en treballs anteriors per altres autors (Forster *et al.*, 2008).

L'activitat conjunta de l'escorça infralímbica, porció ventral de l'escorça prefrontal medial, fou estudiada mitjançant registres electrofisiològics poblacionals en condicions d'anestèsia. Aquesta caracterització implicà el registre intracortical del potencial de camp amb el temps, aplicant els paràmetres del model aplicats per Forster (2008), i mantenint el registre de forma continua fins a la finalització de l'experiment. Amb aquest tipus de registres es possible visualitzar i retenir els valors del potencial elèctric generat per la població neuronal propera a l'elèctrode implantat al si del teixit nerviós. En general, obtenim una sèrie temporal dels valors del potencial elèctric que seran el substrat de l'anàlisi ulterior per tal de permetre la seua caracterització i interpretació.

Els nostres experiments tenen com a condició l'ús d'uretà com anestèsic. L'ús d'aquesta fàrmac, àmpliament utilitzat en estudis electrofisiològics, queda justificat per la baixa interferència que pugés generar en l'activitat neuronal, al temps que proporciona algèsia i immobilitat de l'animal durant llargs períodes de temps. D'aquesta manera, l'uretà proporciona un grau d'anestèsia òptim per a la realització de la cirurgia prèvia, amb mínimes alteracions circulatòries i/o respiratòries.

Els resultats obtinguts en aquest treball es distribueixen seguint els diferents blocs experimentals. Primerament, ens centràrem en promoure un estat neural derivat de l'estimulació elèctrica de CeA, amb els posteriors anàlisis i la caracterització de la resposta oscil·latòria generada a IL. Seguidament, i plantejat com a hipòtesi, estudiarem la implicació del DR davant d'aquest model d'estrés mitjançant la seua inhibició. Per últim, en un darrer bloc experimental, abordàrem l'estudi de la resposta oscil·latòria d'IL davant l'aplicació d'ECP a l'AcbCo.

Després de la cirurgia d'implantació d'elèctrodes de registre i estimulació, els animals es deixaren estabilitzar durant almenys 1 hora abans de començar el registre definitiu. Durant els períodes quirúr-

gic i postquirúrgic es mesurà el patró d'activitat cortical basal en les condicions d'anestèsia. En aquestes condicions ateníem a l'activitat predominant, la resposta a estímuls i el grau d'anestèsia. Aquest període mostrà en IL una activitat oscil·latòria sostinguda amb predomini d'oscil·lacions delta, d'1 a 3 cicles per segon visualitzats *on-line* en el propi registre i amb incursions d'activitat espontània més ràpida (figura 17). Com a mesura del grau d'anestèsia, el pinçament lleu de la cua de l'animal (*tail-pinch*) de manera esporàdica duia a períodes amb LFP d'activitat més ràpida i menor amplitud, signe de la resposta davant d'estímuls i per tant indicatiu de no interferència per sobreaestèsia. De la mateixa manera, una activitat basal predominantment ràpida ens obligava a aplicar dosis suplementàries d'anestèsic que en pocs minuts dugués a un patró d'oscil·lacions delta.

4.2 ACTIVITAT BASAL EN CONDICIONS D'ANÈSTESIA

Amb aquestes condicions mantingudes en el temps durant un període superior a 15 min, iniciàvem el registre de LFP cortical definitiu durant tot el paradigma experimental. D'aquest registre, agafarem com a període basal els 5 primers minuts. Com a exemple representatiu de període basal mostrem la figura 17 (superior). Aquest tram de registre basal mostra un perfil similar als registres control previs. L'anàlisi espectral del LFP, amb aplicació de la transformada ràpida de Fourier en finestres temporals de 20 s ens permet detallar el patró oscil·latori de l'ona infralímbica amb una resolució temporal adient. En aquestes finestres suposem la condició d'estacionarietat necessària per poder fer ús de l'anàlisi de Fourier. Així, en l'espectre de potència de finestres característiques apareixen pics de potència en freqüències delta dintre del rang 1.5-2 Hz (figura 18, esquerra). En aquests períodes basals, de manera inconstant podien aparèixer períodes d'ones més ràpides, amb pics per damunt de 3 Hz dintre de la banda de freqüències theta. Cal considerar que l'estat d'anestèsia amb uretà, tot i mantenir les ones corticals fisiològiques, du a bandes de freqüència lleugerament més baixes que en animal despert.

4.3 L'ESTIMULACIÓ DE L'AMÍGDALA CENTRAL CONDUEIX A UN ESTAT PROMINENT D'ONA LENTA EN L'ESCORÇA PREFRONTAL

El següent pas dintre del paradigma plantejat fou promoure experimentalment l'activació de CeA mitjançant l'estimulació elèctrica, tal i com quedà descrit en l'apartat de metodologia. L'estimulació aplicada fou de polsos positius de 0.2 ms amb 0.8 mV, amb una freqüència de 5 Hz durant 200 s. Aquest patró d'estimulació, seguint el model de Forster (2008), emula l'activitat de l'amígdala front un estrès per immobilització.

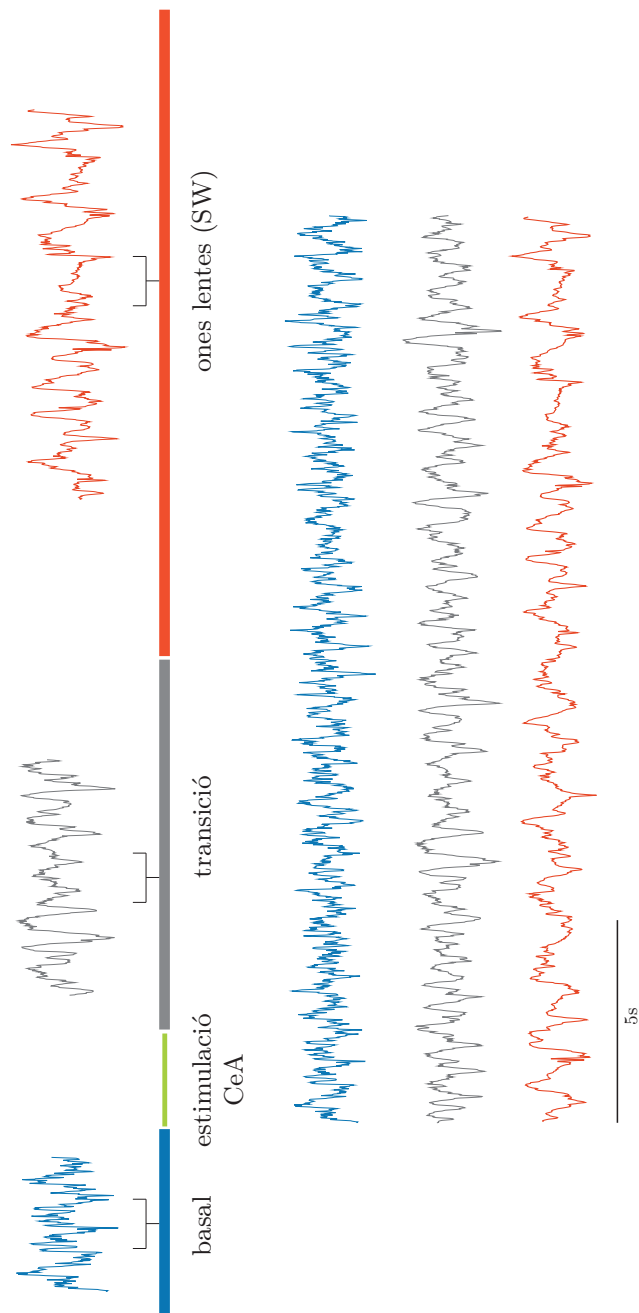


Figura 17: Senyals de LFP (local field potential) de l'escorça IL en els diferents estats oscil·latoris derivats del paradigma experimental d'estimulació de CeA. El primer dels trams (superior, blau) correspon a el registre LFP basal, abans de l'estimulació elèctrica; el segon tram resulta del registre durant el període de postestimulació (mig, gris); i el tercer correspon al LFP en l'estat identificat com a ones lentes (inferior, vermell), instal·lat a IL després de l'activació de l'amígdala

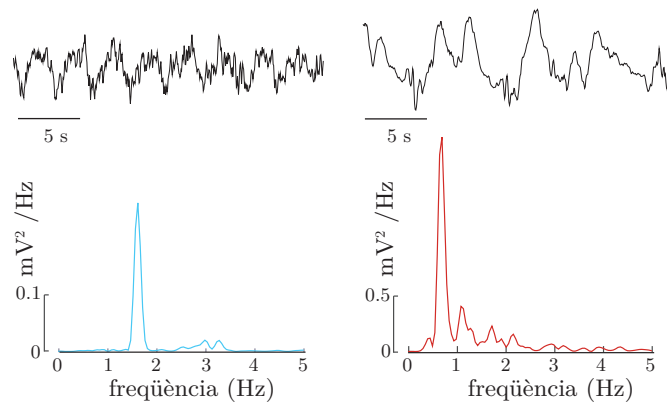


Figura 18: Cas representatiu dels l'espectres de potència derivats de l'anàlisi de Fourier, on es representen dos trams característics: esquerra, registre basal amb pic de freqüència a 1.76 Hz; dreta, el mateix anàlisi per a un tram triat del període on es detecta visualment un canvi en l'amplitud del registre, i on el pic de freqüència dominant es situa en 0.8 Hz

Amb l'aplicació de l'estimulació elèctrica amigdalina, la visualització del registre LFP en cru no mostrà de forma immediata un canvi en el patró oscil·latòri prefrontal, mantenint el perfil basal previ, amb diferències menors. De manera progressiva, l'activitat poblacional esdevingué en ones amb amplitud major, indicatiu d'una baixada de la freqüència dominant. Amb un retard certament considerable (> 30 min), el LFP d'IL vingué marcat per un patró d'ones amb una amplitud clarament diferent de la basal.

Per determinar el patró de freqüències dominants d'aquest estat oscil·latòri, es representaren els espectres de potència per anàlisi de Fourier. Aquestes anàlisis primeres mostren pics de freqüència dominant entre 1 i 2 Hz, valors característics del estat d'anestèsia (figura 18, esquerra). Com a conseqüència de l'estimulació de l'amígdala i amb un retard de 32 min per a aquest cas representatiu, les ones predominants es situen per davall d'1 Hz (figura 18, dreta). Aquest patró del LFP post-estimulació el definiríem com a ones lentes (SW, *slow oscillations*, d'ara endavant), oscil·lacions àmpliament reconegudes en la literatura (Steriade, 2003, 2006).

4.3.1 Detecció del patró oscil·latori d'ona lenta

El fet que l'estat SW no es donés immediatament després de l'estimulació i que mostrara retards variables segons els experiments, ens dugué a establir paràmetres de detecció d'aquest perfil. És per això que determinarem la proporció d'ones SW respecte del total de banda (*potència relativa*), analitzada com a mesura de detecció de predominança

SW en el LFP. En els nostres registres, amb un mostreig de 200 Hz, el rang total de freqüències analitzades fou de 100 Hz, és a dir, 1/2 de la freqüència de Nyquist. D'aquesta manera volíem saber si l'aparició de SW es mantenia en el temps o era un estat transitori o alternant amb el patró delta típic dels nivells basals. Com a exemple característic, en la figura 19 (A) es mostra l'evolució temporal de la ratio SW. S'observa clarament com l'estimulació de l'amígdala central provoca una entrada en un estat SW. Per mètodes de suavització de la sèrie temporal dels valors de la ratio SW, s'aconseguí la corba mitjana descartant així els components transitoris. En conjunt, la ratio SW permeté agrupar els valors en dos nivells estadísticament homogenis, basal (Figura 19, línia blava) i SW (Figura 19, línia vermella), demarcant de forma clara la presència d'un període de transició. En el cas particular que es representa, valors de ratio SW per davall de 0.1 en el període basal duen a un estat amb valors per damunt de 0.4 dintre del rang 0.3-0.65.

Una de les característiques d'aquesta evolució temporal en l'aparició de l'ona SW és la latència tardana després de l'estimulació de CeA. Amb la intenció de determinar un valor mitjà de la latència de l'efecte, sabent de la variabilitat provocada per diferències en els trams de transició, optàrem per determinar el punt mig de creuament (*midcross*) entre els dos estats d'homogeneïtat estadística (figura 20). En els nostres experiments, el valor de latència de l'aparició de l'estat SW fou de 2650 ± 838.8 min (44.50 ± 13.98 min).

L'agrupament dels valors de la ratio SW en finestres de 20s per a tots els casos estudiats ($n=11$) mostren un perfil temporal similar als casos particulars (figura 19B). Considerats els valors mitjans per a cada finestra temporal, l'ANOVA de mesures repetides demostrà diferències significatives de forma global ($F = 62.07$, $p < 0.01$). Les comparacions múltiples pel test de Tukey feren possible agrupar períodes amb homogeneïtat estadística. Com a resultat, separat per un període de transició (figura 19B), símbols blancs) amb una ratio SW de 0.25 ± 0.01 , el període post-estimulació es mantingué dintre del perfil basal amb valors de 0.13 ± 0.005 (figura 19B; símbols cian). L'evolució de la presència d'ona lenta arribà a un període estable amb valors de 0.46 ± 0.005 , definit com a l'estat SW al que féiem menció anteriorment (figura 19B; símbols vermells). D'aquesta manera, els tres trams estadísticament agrupats foren significativament diferents ($F = 820.31$, $p < 0.01$, *posthoc* amb correcció de Bonferroni; figura 19C). Els casos control ($n=4$), amb implantació d'elèctrodes amb la mateixa configuració, no mostren canvis en l'activitat oscil·latòria ($F = 1.070$, $p = 0.367$), tal i como queda plasmat a la figura 19C.

L'anàlisi espectral per anàlisi de Fourier dels diferents trams emmarcats reconegué que la freqüència predominant fou diferent entre ells ($F = 594.94$, $p < 0.01$, *posthoc* amb correcció de Bonferroni; figura 19D), on en condicions basals el pic de freqüència es mantingué en

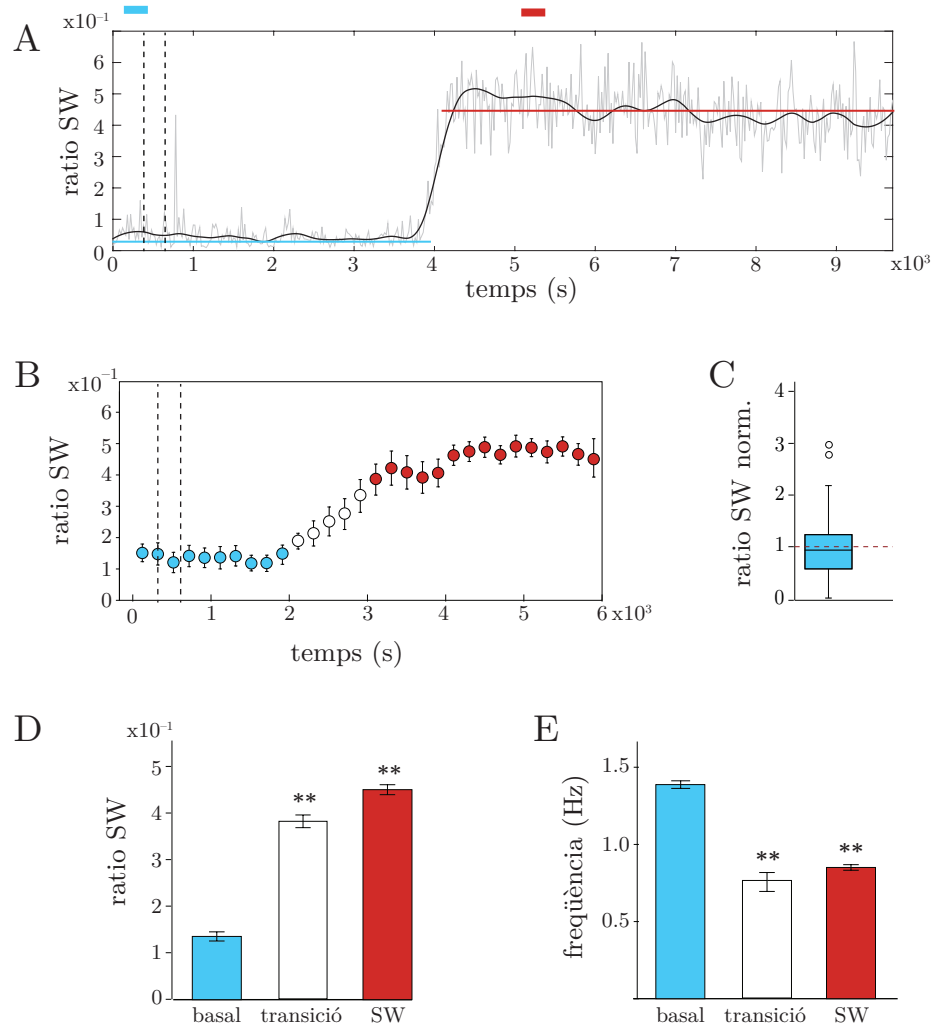


Figura 19: Evolució temporal de la ratio SW (potència relativa) seguint el paradigma experimental. A. Cas representatiu on s'aprecia clarament el canvi en el patró oscil·latori mantingut, temps després de l'estimulació de CeA (línies verticals discontinües. La línia negra resulta del suavitzat de la sèrie temporal original, a partir de la qual es determinen els valors amb homogeneïtat estadística (estacionarietat): cian per a l'estat basal, i vermell per l'estat SW. B. Anàlisi del grup experimental amb la determinació del valor de la ratio SW en finestres de 20s. En colors cian, blanc i vermell (basal, transició i estat SW, respectivament) queden marcats els valors significativament iguals seguint el *post-hoc* estadístic derivat del test de Tukey, respecte del valor mitjà de les 3 primeres finestres temporals. C. Diagrama de caixa dels valors de la ratio SW, normalitzada als valors basals, per als experiments control. D. Representació dels valors mitjans de la ratio SW en els diferents períodes experimentals. E. Representació dels valors mitjans de la freqüència dominant en els diferents períodes experimentals. (mitjana \pm s.e.m; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$)

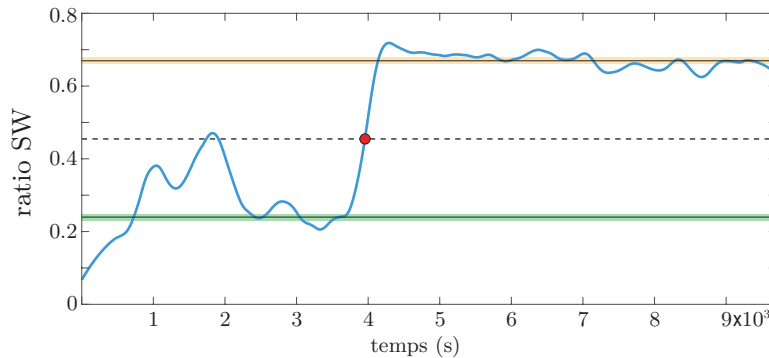


Figura 20: Cas representatiu de la determinació del retard en la dominància de les ones SW. El mètode consisteix en determinar el punt de creuament entre la línia de la ratio SW i la línia mitjana deduïda dels dos grups estacionaris de la sèrie temporal: estat basal, representat per la regió verda, i estat SW, per la regió groga. Aquest punt cau aproximadament en el punt mig de la transició entre els estats basal i SW

valors de $1.39 \pm 0.01\text{Hz}$, arribant a valors de $0.85 \pm 0.009\text{Hz}$ en l'estat SW.

D'aquesta manera, l'estimulació elèctrica de l'amígdala central du a un canvi en el patró d'activitat poblacional de l'escorça prefrontal, caracteritzat per la presència d'ones lentes per davall de 1 Hz, i amb un patró diferent del basal. Aquest perfil pot interpretar-se inicialment com a un event cortical poblacional, en tendir a una major amplitud amb baixada de les freqüències dominants.

4.3.2 *L'oscil·lació lenta es manté amb una estructura temporal particular*

Amb les anàlisis dels apartats anteriors poguérem definir un estat particular de l'activitat neuronal, conseqüència de l'activació experimental de CeA. El fonament d'aquesta aproximació ha estat la transformada ràpida de Fourier, la qual ens descomposa el senyal original en els seus components espectrals, podent definir així les diferents bandes de freqüències dominants. La condició necessària per poder aplicar el plantejament de Fourier és l'estacionareïtat del senyal, la qual cosa ens obliga a segmentar la sèrie temporal en finestres que mantinguin aquesta condició. Això implica que la resolució temporal és considerablement baixa i per tant amaga la temporalitat del canvis en l'activitat neuronal.

4.3.2.1 *L'anàlisi wavelet defineix diferents graus de sincronització*

L'aproximació que plantegem ara, com a un complement a l'anàlisi anterior, és abordar l'anàlisi en el domini temps-freqüència. En aques-

ta ocasió aplicarem l'anàlisi *wavelet*, fent ús de la *wavelet de Morlet*, tal i com quedà descrit en l'apartat de mètodes. Aquest tipus d'aproximació permet incorporar la variable temporal a l'anàlisi del potencial de camp. La representació en espectrogrames marca l'energia espectral en un codi de colors on els tons vermells són indicatius de valors màxims (figura 21). En aquestes anàlisis els valors de potència han estat normalitzats en mode z-score, és a dir, amb mitjana 0 i desviació estàndard 1.

Els trams basals (figura 21, esquerra A i B) estan caracteritzats per una oscil·lació contínua dintre de la banda de freqüències delta amb una manca clara d'ones per davall d'1 Hz. Aquest patró és indicatiu d'un estat sincronitzat amb una banda dominant molt definida. El grau d'anestèsia marca diferents nivells de sincronització i per tant aquest estat basal té un grau de variació considerable entre els diferents casos. La transició (figura 21, mig A i B) cap a l'estat predominant d'ona lenta queda definit per una disminució del grau de sincronització caracteritzat, primer per una baixada de les freqüències de les ones dominants, i segon, per una desincronització respecte de l'estat basal. Finalment, després d'una latència, els espectrogrames *wavelet* derivats del LFP prefrontal queden definits per la presència d'ones lentes desincronitzades, i caracteritzades per contorns dispersos com a estructura temporal definida (figura 21, dreta A i B).

Utilitzant els espectrogrames de cadascun dels casos, nosaltres estimarem l'espectrograma mitjà dintre de la banda 0.5-10Hz per tots els casos experimentals, en els períodes basal i SW. Ambdós trams revelaren la presència d'una oscil·lació regular en la banda delta (figura 22A, dalt), en comparança amb la distribució irregular més complexa dels segments amb predomini d'ones lentes (figura 22A, baix).

Per a quantificar la inhomogeneïtat de l'estat d'ona lenta, detectarem les isolínies dels espectrogrames amb les potències *wavelet* del quart quartil dintre del rang d'ones lentes, 0-1Hz (figura ??B). D'aquesta manera queden definides a l'espectrograma regions on la potència queda per sobre del 75%. Aquests valors foren usats com a mesura de la ratio temporal amb activitat lenta significativa. Seguint el mateix esquema analític que en els apartats previs, amb els valors mitjans en finestres de 20 s, les comparacions múltiples derivades del test de Tukey permeteren definir tres grups amb homogeneïtat estadística (ANOVA, $F = 47.60$, $p < 0.01$). La SW en estat basal té una incidència de 0.15 ± 0.007 , o ratio temporal on la SW està present amb un potència per damunt del 75%. Aquest valors incrementen a 0.46 ± 0.019 en els períodes de transició, i definitivament abasta els valors màxims amb 0.69 ± 0.01 .

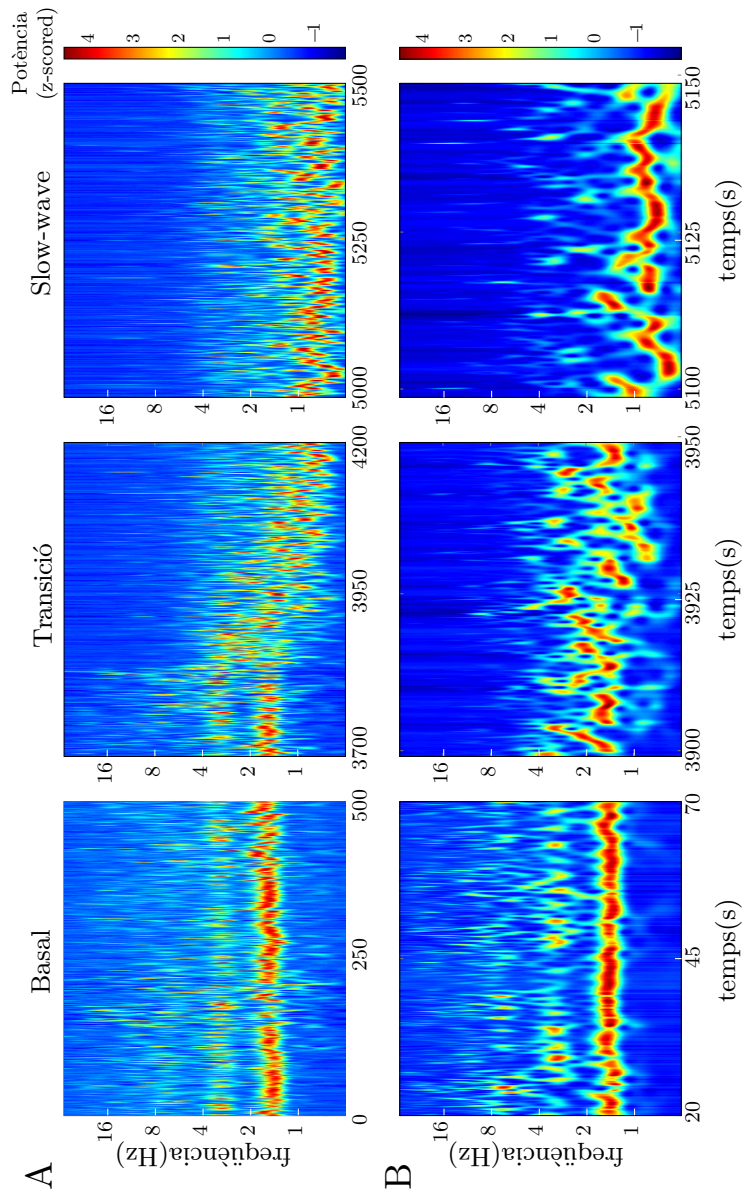


Figura 21: Espectrograms *wavelet* del diferents patrons oscil·latoris. Totes dues fileres representen els estats basal (esquerra), transició (mig) i SW (dreta), amb els detalls en la filera B. Els codis de colors representen la potència de cada freqüència representada, i normalitzades per *z-score*

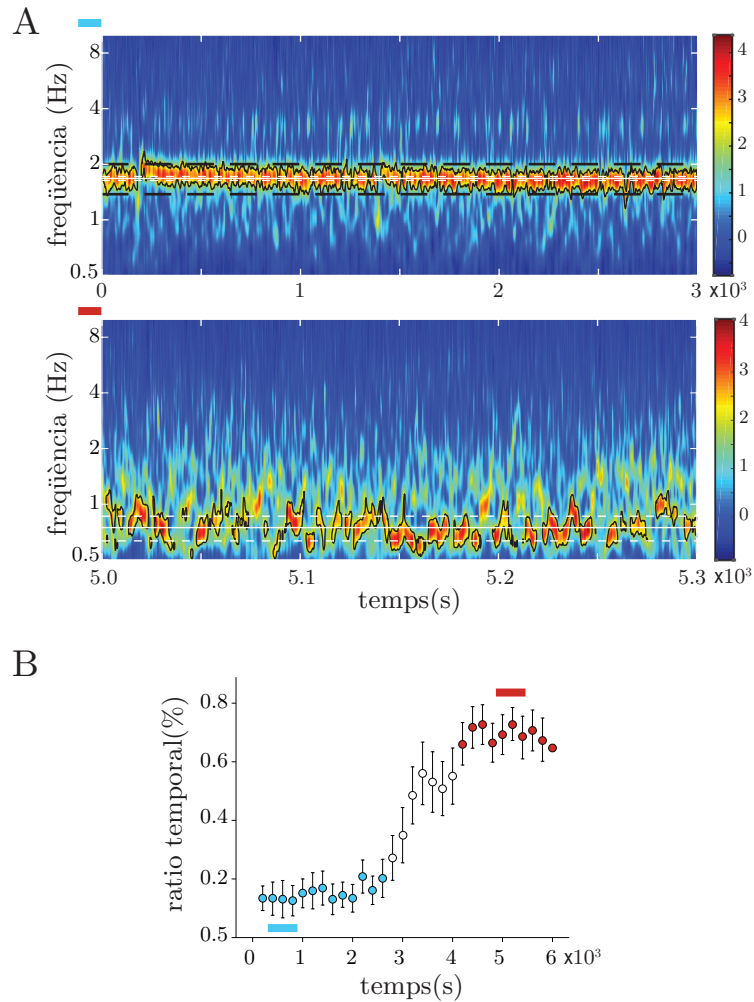


Figura 22: Anàlisi temps-freqüència del grup experimental d'estimulació de CeA. A. Espectrogrames mitjans del període basal (dalt) i SW (baix), on venen marcats per línies blanques els valors mitjans de freqüència (s.e.m, línies discontinües). Aquests valors estan extrets determinant les isolínies de potència que queden incloses en el quart quartil. B. Determinació del valor de la ratio SW en finestres de 20 s. En colors cian, blanc i vermell (basal, transició i estat SW, respectivament) queden marcats els valors significativament iguals seguint el *post-hoc* estadístic derivat del test de Tukey, respecte del valor mitjà de les 3 primeres finestres temporals.

4.3.2.2 Els diferents segments del senyal LFP mostren canvis en la ritmicitat

Per tal de quantificar el grau de ritmicitat una aproximació està en analitzar les autocorrelacions del LFP en segments de 20s. Segons aquesta mesura, aquells senyals que mostren cicles de valors clarament repetitius tindran una correlació alta entre els mateixos senyals desfasats temporalment en el passat i en el futur. És a dir, a mode d'exemple, un senyal purament sinusoidal tindrà una correlació màxima si el comparem amb la mateixa ona 1 període passat o futur. En el nostre cas, utilitzarem desfases de $\pm 5s$ amb una resolució de 0.01 s.

Pels nostres registres, i com a cas representatiu, en la figura 23 es pot observar com els diferents segments mostren diferents graus de regularitat, sent aquesta una mesura del grau de ritmicitat. El períodes basals (figura 23B, cian) destaquen per correlacions elevades, indicatiu de trams molt rítmics altament sincronitzats. Considerem el valor d'autocorrelació al trobat en el primer pic diferent de 0. En la representació de l'autocorrelació s'observa como queden marcats pics recurrents d'autocorrelació a intervals regulars, aproximadament amb una freqüència entre 1.2-1.6 Hz. L'espectre de potència del mateix segment d'anàlisi confirma aquest detall amb un pic a 1.3Hz (figura 23C). En trams considerats com de transició (figura 23, verd) entre les ones delta i lentes hi ha una pèrdua de ritmicitat i per tant l'entrada en un estat desincronitzat, igualment corroborat pel seu espectre de potència, sense la presència de pics destacables en l'energia espectral. Pel contrari, l'estat considerat com a *estat SW* (figura 23, vermell) mostra un augment del grau de ritmicitat però amb correlacions per davall dels valors trobats en els estats basals. Podem observar com aquest patró representatiu de SW es va perdent amb el temps, amb pèrdua de ritmicitat visible en la seua autocorrelació. En veure l'espectre de potència corresponent a aquest tram podem albirar com hi ha una baixada de la potència del pic per davall d'1 Hz, alhora que reapareix un pic amb freqüències similars a les basals. Aquesta característica fa pensar en el final de l'estat SW amb l'entrada de trams d'ones delta, incrustats entre les ones lentes.

L'evolució temporal de l'autocorrelació es mostra a la figura 23A. En aquest gràfic, amb finestres de 20s solapades un 50%, queden representades les autocorrelacions incorporant la variable temporal. Resulta clarificador com queden descrits els dos estats oscil·latoris (basal i SW) amb diferent ritmicitat i amb un tram ben definit de transició (marca verda) entre ambdós.

4.3.3 L'estat SW conté acoblades ones més ràpides

De les diferències que poden ser observades a simple vista en els registres crus del LFP prefrontal en comparar els trams basals amb els corresponents a predomini d'ona lenta son, un canvi en l'amplitud

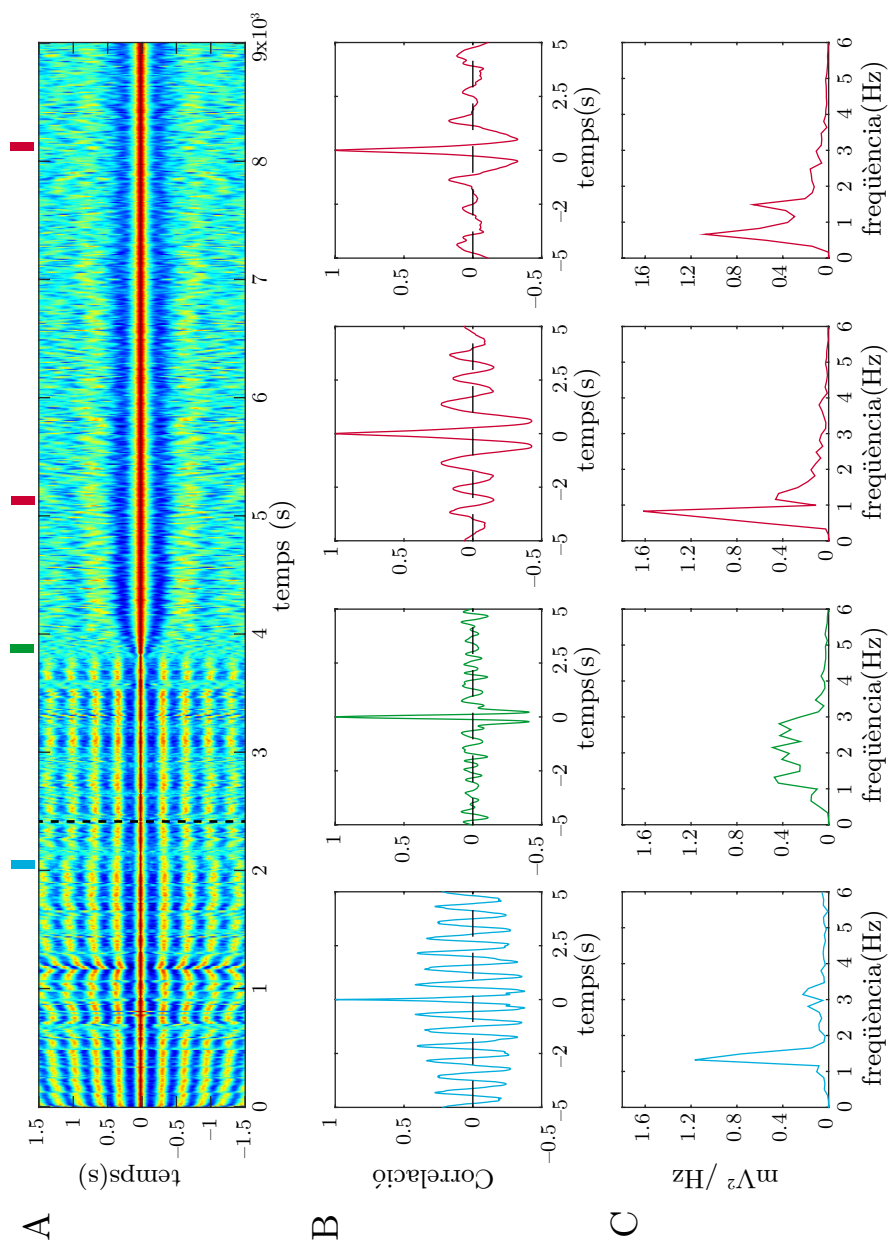


Figura 23: Anàlisi de ritmicitat a partir de les autocorrelacions dels senyals originals. A. Autocorrelograma en el domini del temps en finestres de 20 s i solapades entre si 10 s. Valors alts de correlació queden representats per tonalitats vermelles. Les marques de colors indiquen els trams representatius en els gràfics inferiors. B. Autocorrelacions del senyals per als trams marcats en figura A. C. Espectres de potència de les pròpies autocorrelacions, com a indicatiu de la presència de les freqüències que defineixen la ritmicitat.

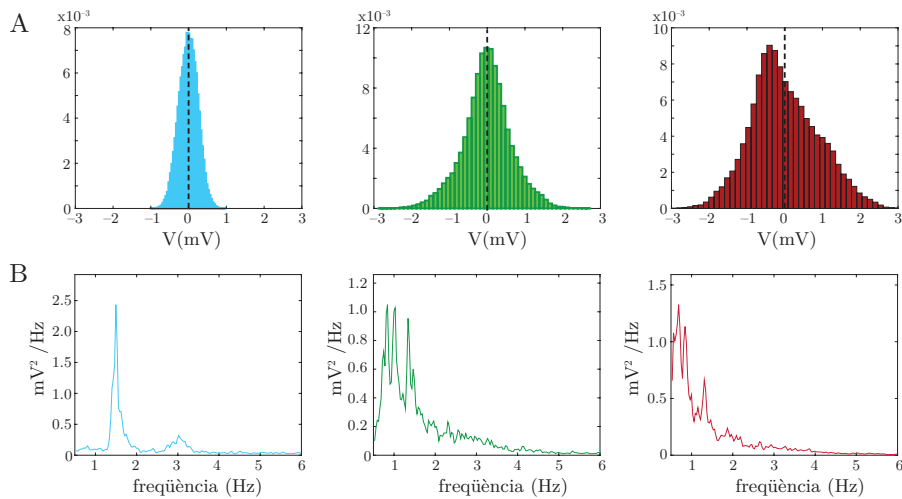


Figura 24: Anàlisi de la distribució d'amplituds amb el propòsit de trobar incrustacions de possibles oscil·lacions ràpides. A. Distribucions d'amplituds en els tres trams experimentals: blau, període basal; verd, període de transició; vermell, període amb predominància de SW. B. Espectres de potència de trams representatius de les distribucions descrites en A.

del senyal, i la presència diferencial d'ones de menor amplitud i freqüències més ràpides incrustades entre les ones de freqüències baixes, en banda delta o SW, depenent del període experimental. Resulta així interessant saber si l'entrada en l'estat SW implica un canvi en la presència d'ones acoblades a les oscil·lacions dominants en els registres. Cal considerar aquí que en les anàlisis espectrals fetes en els apartats anteriors resulta difícil aïllar bandes de freqüència altes quan se visualitzen a la vegada que els ritmes més lents. L'explicació que justifica aquest inconvenient està en considerar que en els registres de l'activitat elèctrica del teixit nerviós, l'amplitud és inversament proporcional a la freqüència de les oscil·lacions presents. Aquest factor $1/f$ fa que les ones amb valors alts de freqüència mostren amplituds molt baixes i per tant puguin estar emmascarades per les oscil·lacions lentes.

Amb el propòsit de reconèixer la presència significativa d'ones més ràpides en els nostres registres i a més poder evidenciar que aquestes ones queden acoblades a alguna de les fases de les ones lentes, en una primera aproximació, representarem la distribució de les amplituds en forma d'histogrames (figura 24). Aquest tipus de representació revelà que en els períodes basals, els valors del potencial de camp en les fases positives i negatives es trobaven simètricament distribuïts, indicant doncs que no hi ha havia un acoblament fàsic d'ones amb diferents bandes de freqüència. Aquesta afirmació es pogué demostrar calculant l'homocedasticitat de la distribució amb valors no significativament diferents de 0. En els períodes catalogats de ba-

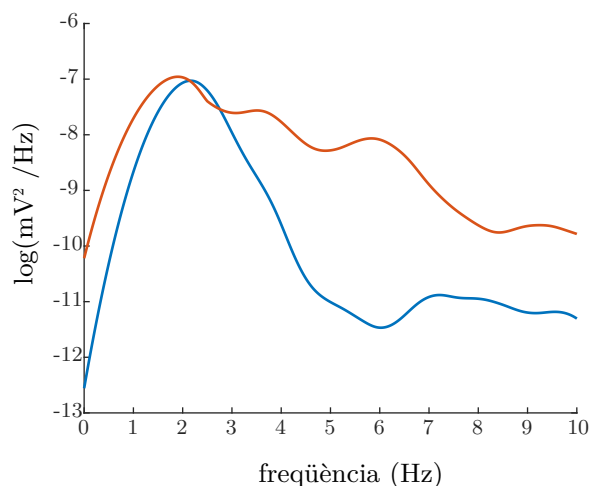


Figura 25: Espectres de potència en escala logarítmica per tal de destacar la presència d'ones theta respecte de les ones lentes. Línea blava, espectre de potència d'un tram basal. Línea vermella, espectre de potència d'un tram amb predomini d'ona lenta com a resultat de l'activació de CeA

sals segons els apartats anteriors, els valors d'homocedasticitat foren de 0.05 ± 0.09 , amb valors $p > 0.05$ segons el test t d'una mostra ($t = 0.534$). De igual manera, en els trams de transició, el perfil de les distribucions fou similar als basals, amb valors d'homocedasticitat de 0.09 ± 0.063 , amb $t = 1.36$ i $p > 0.05$, segons la prova t.

Pel contrari, l'estat SW dugué a distribucions asimètriques dels valors d'amplitud, amb una predominança dels valors negatius, amb homocedasticitat 0.2 ± 0.07 , $p < 0.05$ i $t = 2.62$, segons la prova t d'una mostra. Aquests resultats suggereixen que el patró SW conté diferències entre les fases positiva i negativa amb la possibilitat de l'acoblament d'ones de freqüències majors en la fase negativa, tal i com mostra la distribució.

L'anàlisi de Fourier convencional en les bandes theta (3 – 8Hz) i beta (10 – 20Hz) ens permet reconèixer un augment d'aquests ritmes correlacionat amb la presència d'ona lenta. Una representació dels espectres de potència en escala logarítmica facilita identificar pics de freqüència en les bandes theta i beta per sobre dels valors de potència en els estats basals (figura 25).

L'estadística per al conjunt de registres ratifica aquesta descripció prèvia. La mesura de la potència absoluta de cadascuna de les tres bandes de freqüències estudiades ens indica que totes tres augmenten significativament després d'una latència comparable (ANOVA de mesures repetides: banda SW, $F = 11.10$, $p < 0.01$; banda theta, $F = 9.61$, $p < 0.01$; i banda beta, $F = 9.43$, $p < 0.01$). Les comparacions múltiples respecte dels valors basals pel test de Dunn feren possible agru-

par períodes amb homogeneïtat estadística i per tant, identificar la presència de trams significativament diferents dels períodes basals com a conseqüència de l'efecte provocat pel patró d'estimulació.

De manera particular, la distribució espectral de la banda *beta* demarca pics de freqüència màxima en la banda restringida als valors 10 – 14Hz, ones reconegudes com a *spindles*, segons la classificació convencional de bandes de freqüència. La simple representació del senyal filtrat per a la banda 10 – 14Hz (vermell) amb la sobreimpresió del senyal filtrat per a SW (negre) evidencia que els canvis d'amplitud en la banda beta cauen en les fases descendents dels cicles SW (figura 27A). En una representació amplitud-fase sobre 2 cicles de l'oscil·lació podem notar que la força de l'acoblament pot ser inferida visualment. És a dir, amb les fases representades en el cercle, on 0° correspon a la vall del cicle, veiem com les majors amplituds es fan correspondre amb les fases al voltant de 0°, paulatinament creixent en la fase descendent del cicle (figura 27B). Per tal d'avaluar el grau d'acoblament SW-*spindles* nosaltres calcularem l'índex de modulació, com a una mesura de l'acoblament de la fase de l'ona de freqüència més lenta amb l'amplitud de l'ona més ràpida. Per saber si aquests valors de l'índex de modulació tenen significació estadística aplicarem mètodes subrogats, és a dir, l'aplicació de desfases aleatoris de l'ona lenta per veure si les distribucions d'amplituds aconseguides es diferencien significativament del senyal original. Aquest procés es realitzà un total de 1000 vegades per cada tram calculat, determinant així la possible significació per a cadascun dels trams.

Una mesura de l'índex de modulació amb el temps revelà la transició entre ambdós estats, conseqüència de l'estimulació de CeA (figura 27C), amb valors de modulació significatius en els trams SW. Els valors de *índex de modulació* foren sistemàticament més elevats (test de Wilcoxon per a mostres emparellades; $z = -2.2$, $p < 0,05$) durant l'estat SW (0.02 ± 0.005) que en els senyals basals (0.003 ± 0.002). Per tant, les ones lentes i l'activitat en els rangs de freqüència de les ones de tipus *spindles* se sincronitzaren durant els períodes d'ones lentes en comparació amb el perfil basal (figura 27D).

4.4 IMPLICACIÓ DEL NÚCLI DORSAL DEL RAPE EN L'ACTIVACIÓ DE L'ESCORÇA PREFRONTAL

Tal i com plantejàvem en la introducció i hipòtesis d'aquest treball, una possibilitat plausible és que l'input serotoninèrgic des del nucli dorsal del rafe, major aportació de serotonina de l'encèfal de la rata i amb projecció sobre l'escorça prefrontal, siga el responsable de l'estat SW abastat com a conseqüència de l'estimulació de CeA, segons el model d'estrès agut. És per això que plantejarem com a una part experimental la inactivació del propi DR una vegada la predominança de les oscil·lacions prefrontals estigués en el rang SW.

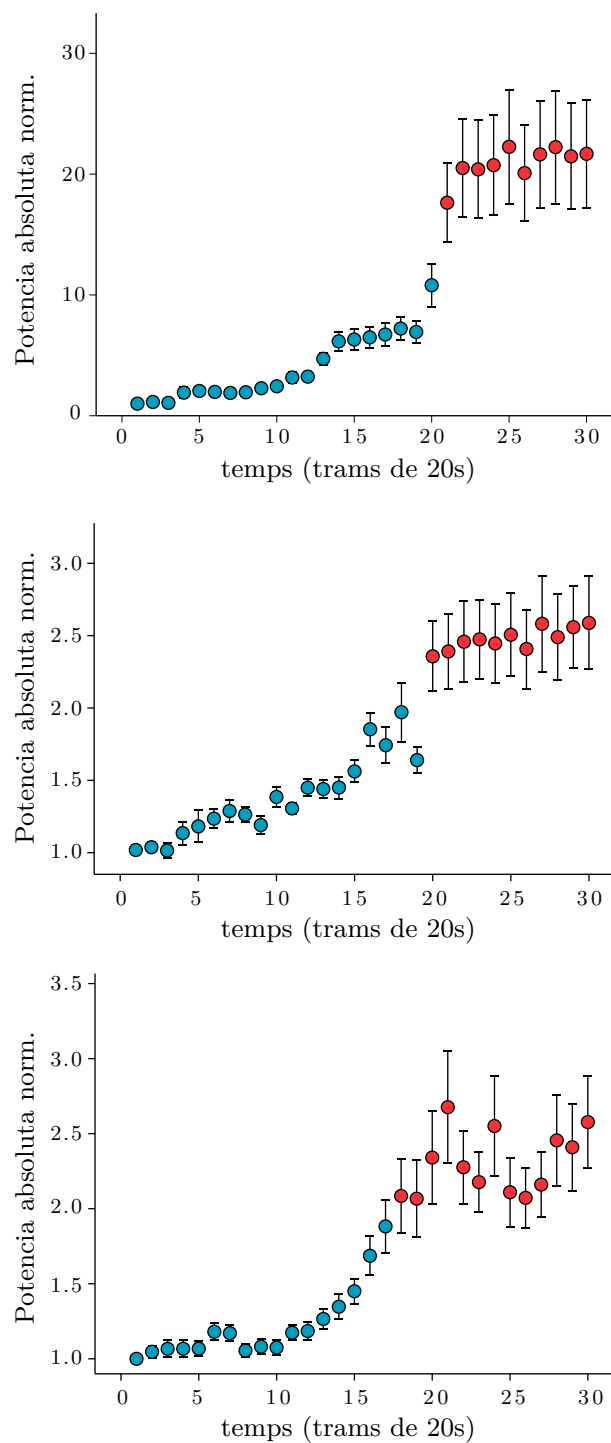


Figura 26: Representacions de l'evolució temporal de les potències absolutes per a les bandes de freqüència SW (dalt), theta (mig) i beta (baix). En tots tres gràfics els valors promig de finestres de 20s estan normalitzats als valors de les tres primeres finestres del període basal. L'anàlisi estadística agrupa els valors de potència en dos grans grups, aquell que manté valors del rang dels trams basals (cian), i aquell que resulta ser significativament diferent als valors basals (vermell). Les barres indiquen el valor de la s.e.m

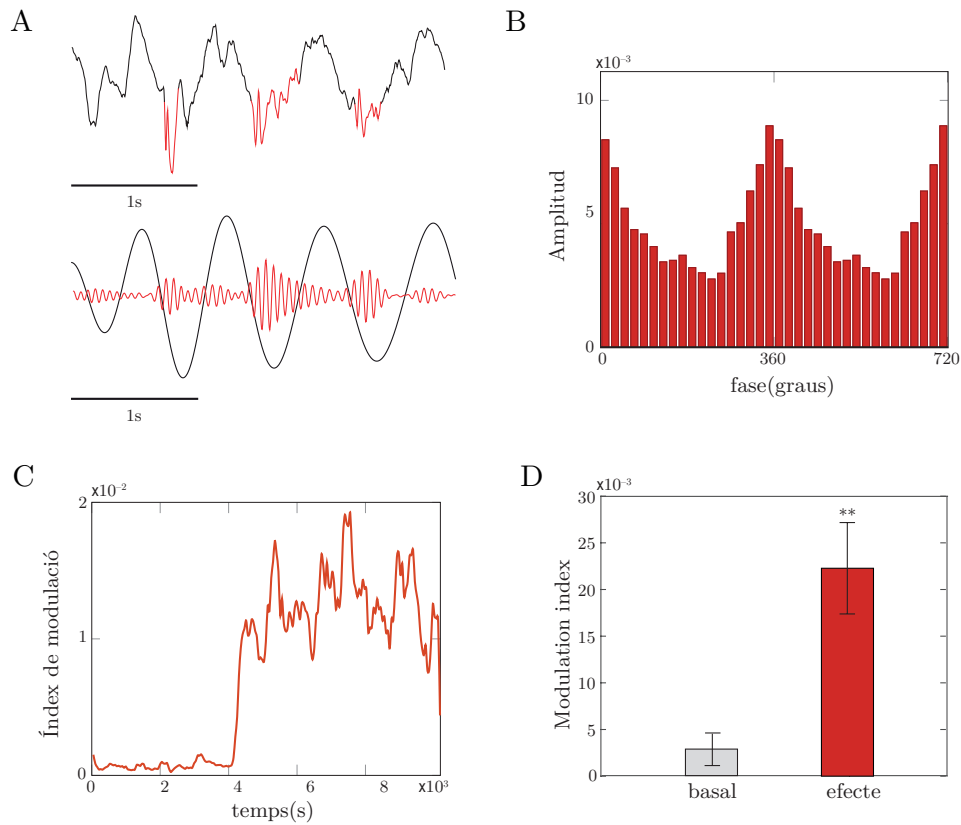


Figura 27: Detecció d'*spindles* i de la seua modulació per les ones SW. A. Tram representatiu del senyal original (dalt) i del senyal filtrat (baix) per a les SW (negre) i *spindles* (vermell). En el senyal original queden marcats els trams d'*spindles* detectats per amplituds per damunt del 75% del senyal filtrat. B. Acoblament de l'amplitud de les *spindles* amb la ona SW. Cas representatiu d'un tram en el període de l'efecte amb dominància de SW, on les màximes amplituds de les *spindles* cauen preferentment en una porció de la fase de l'ona lenta delimitada. C. Evolució temporal de l'índex d'acoblament SW-*spindle*, amb un augment significatiu on es dona la presència predominant de SW. D. Estadística del grup experimental, amb doble significació de l'acoblament amplitud-fase entre *spindles* i SW. (mitjana \pm s.e.m; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$)

Les dades d'aquesta part experimental ($n = 6$) ens dugueren a que el bloqueig farmacològic del RD amb muscimol, un agonista del receptor $GABA_A$, sota el domini de l'estat SW post-estimulació, provoca un cessament evident de les oscil·lacions lentes en l'escorça infralímbica (figura 28). Els nivells basals, post-estimulació i l'estat SW mostren valors de la ratio de SW de l'ordre d'aquells trobats als experiments precedents. Una mostra de la distribució espectral d'aquests trams es pot visualitzar a la figura 28A. Ara bé, la infusió local de muscimol sobre el RD du a les potències relatives de SW a valors absolutament comparables als basals, amb una latència baixa respecte dels experiments precedents, amb valors de $552.250 \pm 305.92s$ ($9.20 \pm 5.08min$)

Aquesta interacció significativa entre la presència de muscimol i la pèrdua de l'estat SW d'IL pogué ser demostrada en considerar en conjunt de casos experimentals. Els períodes de LFP control mostren propietats oscil·latòries iguals a les descrites en la secció anterior en les seccions anteriors. En concret, l'oscil·lació delta present en els trams basals (ratio SW: 0.10 ± 0.07) va ser substituït per una oscil·lació lenta amb una potència relativa de 0.45 ± 0.008 (figura ??B) després de l'estimulació de CeA. La microinjecció de muscimol inverteix significativament la ratio de SW, aconseguint valors de 0.15 ± 0.01 amb una latència baixa. Les dades del conjunt dels registres marquen diferències significatives ($F = 292.22$, $p < 0.01$) entre els trams de 20 s analitzats. També com a conseqüència de l'efecte del muscimol, les freqüències dominants en l'LFP fan la transició entre les ones delta basals i les SW, tornant a valors basals amb la presència de l'inhibidor ($F = 335.46$, $p < 0.01$).

De la mateixa manera, les potències absolutes de les tres bandes de freqüència amb canvis significatius (lenta, $F = 11.16$, $p < 0.01$; theta, $F = 6.45$, $p < 0.01$; beta, $F = 9.07$, $p < 0.01$), conseqüència de l'activació de l'amígdala, queden en els nivells basals davant la inactivació del DR amb muscimol. En la figura 30 queden representats els valors de potència absoluta en el domini del temps en finestres de 20 s per a tots els registres obtinguts. Amb una anàlisi estadística igual que la plantejada en l'apartat anterior es pogué inferir una evolució temporal de les potències absolutes de les tres bandes de freqüència amb un perfil semblant, evidenciant la correlació entre l'ona lenta i les bandes theta i beta. Els trams mitjans de finestres de 20 s de totes tres bandes queden agrupades en un grup que inclou als trams dels períodes basal i post-infusió de muscimol, i el grup corresponent al període de l'efecte provocat per l'estimulació elèctrica.

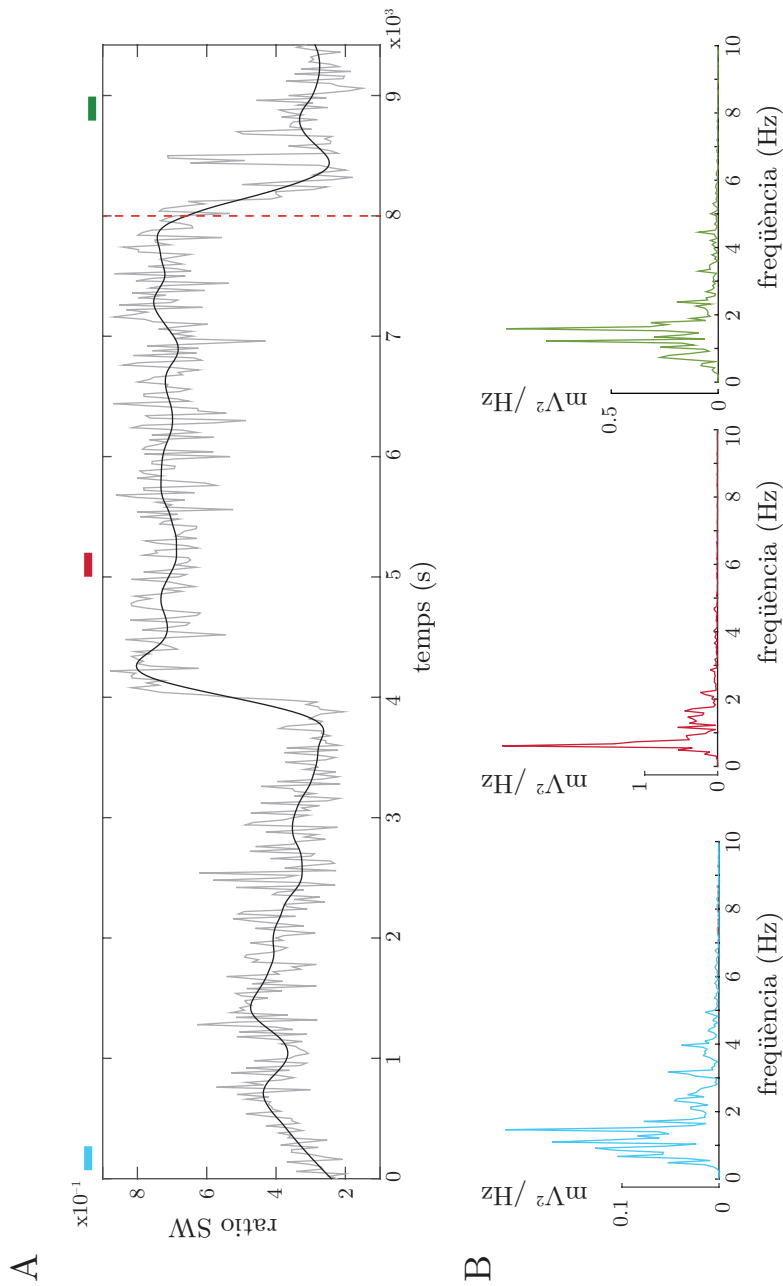


Figura 28: Efecte de la inhibició temporal del DR sobre la ona SW induïda per estimulació de CeA. A. Cas representatiu de l'evolució temporal de la ratio SW (potència relativa), amb estimulació elèctrica de CeA (línies negres discontinües), i amb infusió local de muscimol (línia vermella discontinüa). Els valors de la ratio SW queden suavitzats per la corba (línia negra) que permet entreveure de manera més clara el trànsit de la ratio amb el temps. B. Espectres de potència del trams marcats pels segments de color que apareixen a sobre de la gràfica del apartat A.

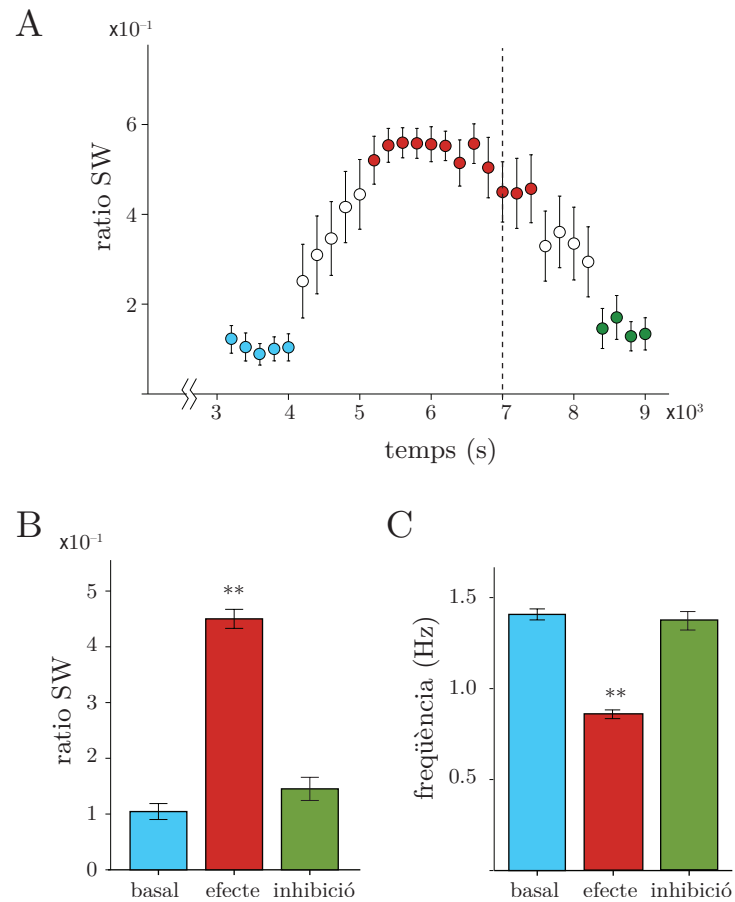


Figura 29: Anàlisi estadístic de l'efecte del muscimol sobre l'estat SW. A. Evolució temporal mitjana de la ratio SW en finestres de 20 s. Queden agrupats estadísticament els valors de ratio, amb un grup de valors del rang dels trams basals (punts cian), i el grup diferent als valors basals (punts vermells). S'aprecia la pèrdua de l'estat SW com a efecte de la inactivació farmacològica del DR (punts verds). B. Representació dels canvis en la SW ratio, amb comparances estadístiques respecte del tram basal. C. Representació dels canvis en la freqüència dominant, amb comparances estadístiques respecte del tram basal. (mitjana \pm s.e.m; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$)

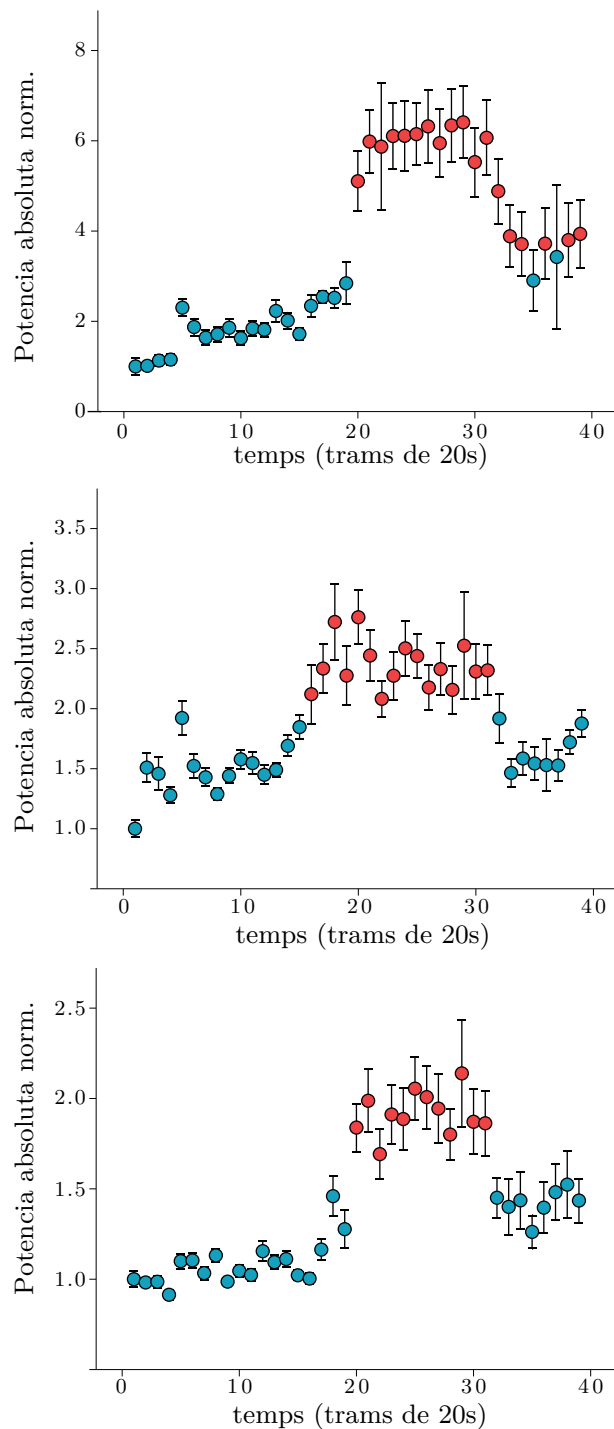


Figura 30: Representacions de l'evolució temporal de les potències absolutes per a les bandes de freqüència SW (dalt), theta (mig) i beta (baix), amb la inactivació del RD per infusió de muscimol. En tots tres gràfics els valors promig de finestres de 20s estan normalitzats als valors de les tres primeres finestres del període basal. L'anàlisi estadística agrupa els valors de potència en grups en el domini del temps, amb valors del rang dels trams basals (punts cian), els que resulten de l'efecte de l'estimulació de CeA i significativament diferents als valors basals (punts vermells), i de nou els que representen la pèrdua de potència SW per a tornar als valors basals (punts cian). Les barres indiquen el valor de la s.e.m

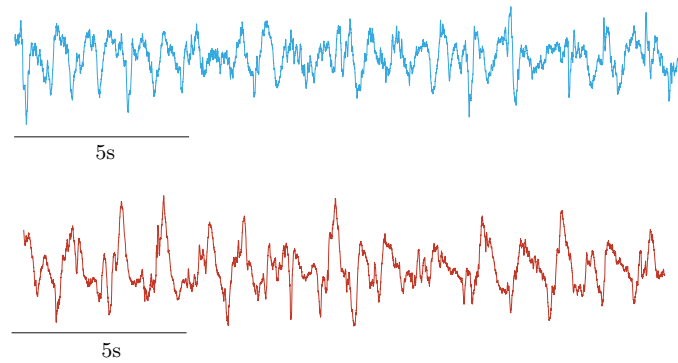


Figura 31: Senyals LFP de l'escorça IL en els diferents estats oscil·latoris derivats de l'aplicació de ECP sobre l'Acb. El primer dels trams (superior, blau) correspon al registre LFP basal, abans de l'estimulació elèctrica; el segon tram resulta del registre durant el període de postestimulació, en un estat identificat com a d'ones lentes (inferior, vermell)

4.5 L'ESTIMULACIÓ CEREBRAL PROFUNDA DEL NUCLI ACCUMBENS DU A UN ESTAT D'ONA LENTA A L'ESCORÇA PREFRONTAL

Amb el propòsit de veure la influència de l'estimulació elèctrica del nucli accumbens core, dintre del tercer dels objectius d'aquest treball, estudiarem el perfil oscil·latori generat a IL per l'ECP. Aquest anàlisi es va portar a terme mitjançant els paràmetres utilitzats en els apartats anteriors.

El perfil del registre LFP basal de l'IL, dintre de les característiques de l'estat d'anestèsia i comparable als registres dels apartats anteriors, manté pics de freqüència en la banda delta, entre 1.5 – 3Hz. L'estimulació de l'AcbCo, amb els paràmetres de 130 Hz, 60 mA en polsos de 3 ms, provoca en poc de temps en un canvi dels trets oscil·latoris del registre. La figura 31 dona una mostra de dos segments característics d'ambdós estats.

Amb un grup experimental de quatre exemplars ($n = 4$), el càlcul de la potència relativa (ratio SW) de les ones lentes en finestres de 20 s ens proporciona evidències de que la ECP d'Acb provoca canvis gairebé immediats en els seus valors ($F = 9.32$, $p < 0.01$). Les comparacions amb els trams basals ens defineix clarament dos grups de significació estadística (figura 32A), amb diferents perfils dels seus espectres de potència (figura 32B). Aquesta determinació marca clarament un baix retard en el canvi de patró oscil·latori.

Així i tot, els resultats no indiquen que l'oscil·lació SW tinga trets iguals als aconseguits davant de l'estimulació de CeA. Les potències absolutes de les tres bandes de freqüència mostren canvis significatius en les bandes SW ($F = 12.40$, $p < 0.01$) i theta ($F = 4.95$, $p < 0.01$), però sense que estiguen presents ones de la banda beta i que per tant

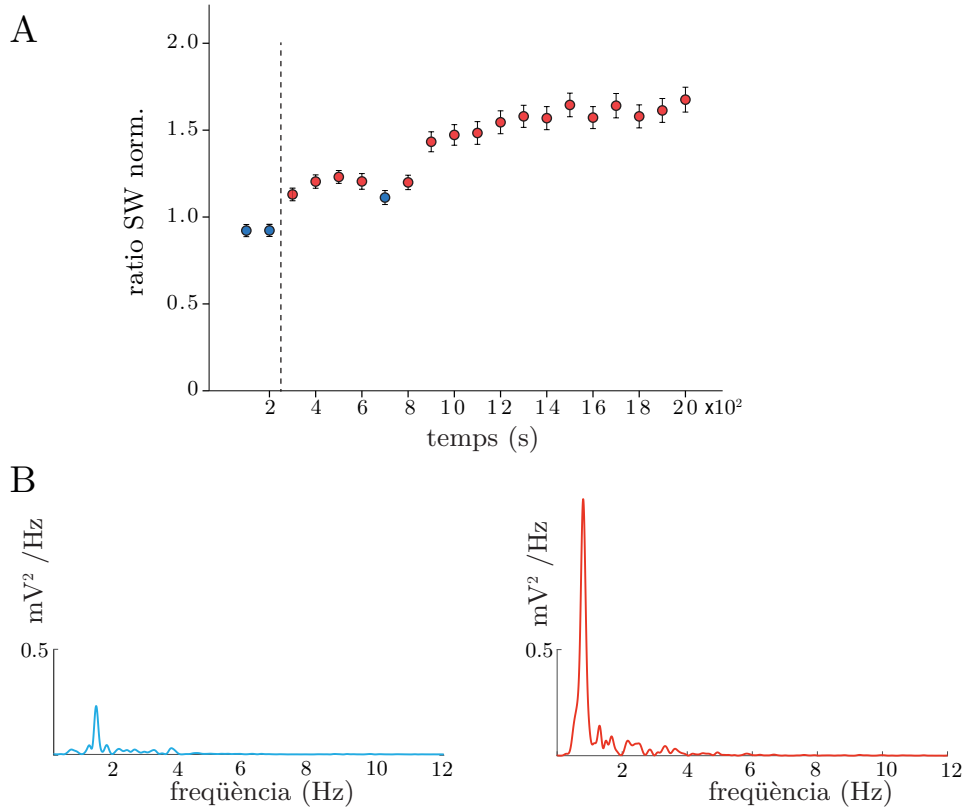


Figura 32: Evolució temporal de la ratio SW (potència relativa) normalitzada als valors mitjans basals. A. Anàlisi del grup experimental amb la determinació del valor de la ratio SW en finestres de 20 s. En colors cian i vermell (basal i estat SW, respectivament) queden marcats els valors significativament iguals seguint el *post-hoc* estadístic derivat del test de Dunnett, respecte del valor mitjà de les 3 primeres finestres temporals. B. Espectres de potència derivats de l'anàlisi de Fourier, on es representen dos trams característics: esquerra, registre basal amb pic de freqüència a 1.8 Hz; dreta, el mateix anàlisi per a un tram triat del període SW, on el pic de freqüència dominant es situa en 0.78 Hz

no hi haja possibilitat d'acoblament amb ones del tipus *spindle*. En la figura 33 estan representats els valors de potència absoluta en el domini del temps en finestres de 20 s per a tots els registres obtinguts.

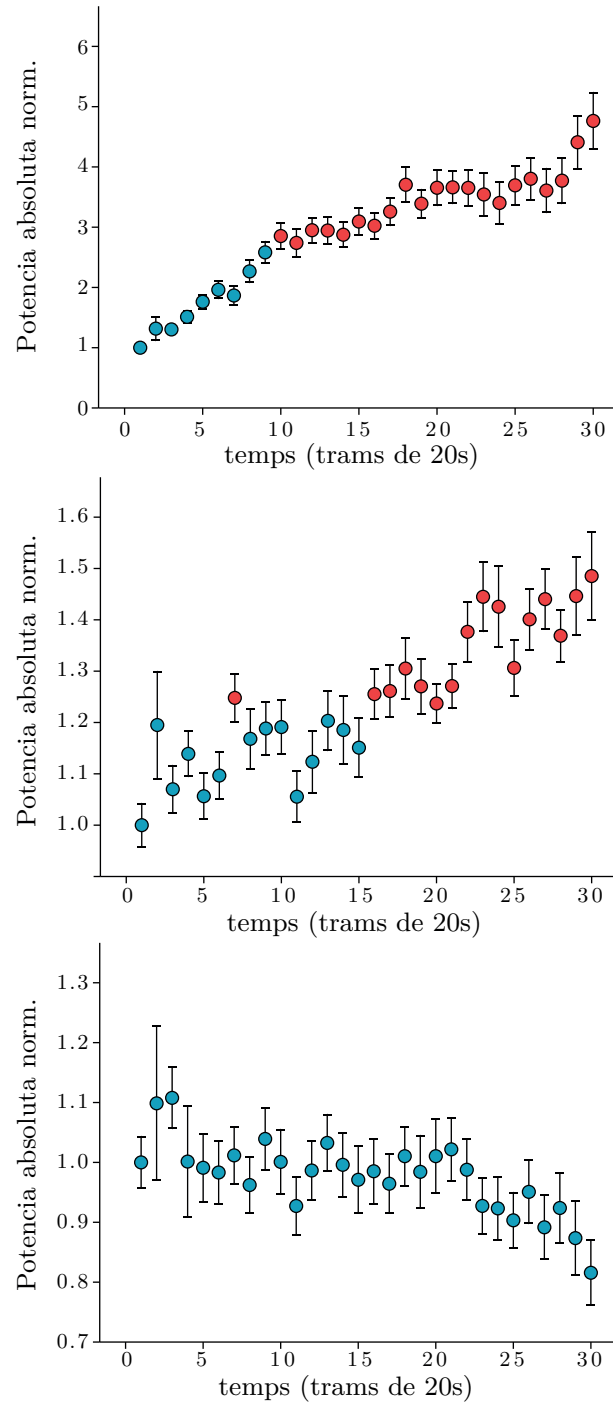


Figura 33: Representacions de l'evolució temporal de les potències absolutes per a les bandes de freqüència SW (dalt), theta (mig) i beta (baix). En tots tres gràfics els valors promig de finestres de 20s estan normalitzats als valors de les tres primeres finestres del període basal. L'anàlisi estadística agrupa els valors de potència en grups en el domini del temps, amb valors del rang dels trams basals (punts cian), els que resulten de l'efecte de l'ECP i significativament diferents als valors basals (punts vermells). Les barres indiquen el valor de la s.e.m

DISCUSSIÓ

L'estudi dels circuits cerebrals mitjançant l'anàlisi de la seua activitat poblacional cobra cada vegada més interès. El desenvolupament de tècniques de registre i anàlisi cada vegada més complexes permet la descripció de patrons de comunicació fisiològics entre àrees i la seua correlació amb determinades funcions cerebrals.

La descripció dels circuits des del punt de vista electrofisiològic permet, a més, l'abordatge de la comprensió de determinades patologies en els mateixos termes. És a dir, mitjançant la detecció de patrons aberrants en l'activitat poblacional d'un circuit afectat en una determinada patologia es troben marcadors de la malaltia en sí. Però a més s'assenyalen possibles substrats funcionals del trastorn i, per tant, una diana terapèutica cap a la que dirigir la investigació clínica. En aquest mateix sentit, les investigacions actuals es dirigeixen cap a la caracterització d'activitats electrofisiològiques normals dels circuits de l'emoció per diferenciar-les d'activitats aberrants que representarien el substrat del trastorn.

Un dels trets comuns que es manifesten en moltes malalties mentals és una alta component d'estrès. És per això que l'estudi de la interacció entre les estructures neurals responsables de la regulació d'estrès en termes electrofisiològics pot resultar molt útil tant per al coneixement del sistema en sí mateix, com per a una major comprensió de les malalties relacionades.

Dins d'aquest circuit, és molt important el nucli central de l'amígdala, com a principal output amigdalí. CeA és la divisió responsable de la inducció de les respostes comportamentals i fisiològiques davant estímuls amb càrrega emocional, com ara els estressors. Aquestes respostes són fonamentalment intervingudes mitjançant les seues connexions amb l'eix HHA i el tronc de l'encèfal. Una altra estructura molt rellevant en aquest circuit és l'EPFm, amb un paper crític en el procés d'elecció de la resposta. Com a part d'aquest procés, l'EPFm, i en particular la seua divisió infralímbica (IL) ha de poder inhibir aquelles reaccions no adaptatives (tant a nivell d'HHA com comportamental) i poder donar lloc a d'altres més apropiades. Això implica modular l'activitat de les altres estructures implicades en el circuit. El RD, per últim, manté connexions recíproques amb aquestes dues estructures, d'entre moltes altres, de manera que les seues projeccions serotoninèrgiques poden tenir funcions afavoridores o inhibidores de les respostes d'estrès, per la qual cosa se li atribueixen tant funcions ansiolítiques com ansiogèniques.

Per tot això, el primer objectiu de la present Tesi doctoral ha estat aprofundir en l'estudi de la interacció del circuit format per CeA-IL-RD en la gestió d'un estrès en termes d'activitat neural. Per a això, en un primer experiment, hem analitzat el patró oscil·latori que es registra a IL en resposta a un estrès agut generat per l'activació directa de CeA. Els resultats mostren l'aparició d'una oscil·lació lenta de característiques particulars. A continuació, en un segon experiment, hem comprovat que RD participa de la generació d'aquest patró oscil·latori.

En la primera part d'aquesta discussió tractarem d'interpretar el significat d'aquesta SW en el paper d'IL en resposta a l'estrès generat per l'activació de CeA, així com el de RD. A més, discutirem els possibles mecanismes CRH i 5-HT que hi podrien estar participant.

5.1 L'ESTIMULACIÓ DE CEA INDUEIX UNA OSCIL·LACIÓ CARACTERÍSTICA A IL

En el primer dels nostres experiments es va registrar l'activitat del potencial de camp (LFP) d'IL abans i després de generar un estrès agut mitjançant l'estimulació elèctrica de CeA. L'estudi exhaustiu que hem portat a terme per tal de descriure d'aquesta oscil·lació particular, ens permeté assegurar que no es tracta d'un estat experimental atribuïble a l'anestèsia, ja que presenta trets característics i diferents a aquella que registrem al període control previ a l'estimulació. Per tant, podem assegurar que es genera en conseqüència a l'activació de CeA.

Específicament, l'anàlisi dels LFPs mostra que l'estimulació induïx un canvi destacat del LFP d'IL, que consisteix en un augment clarament significatiu de la proporció d'ona lenta, amb freqüència mitjana inferior a 1Hz. A més a més, aquesta oscil·lació es diferencia de l'estat control, amb presència d'ones acoblades (*spindles*) de freqüències ràpides. En concret, les *spindles* detectades s'associen a la fase descendent de l'oscil·lació. I, a més, durant aquest període de predomini d'activitat lenta, també augmenta significativament la potència de la banda theta. És de destacar que aquest canvi no es produeix de manera immediata, sinó amb un *delay* de 42 min de mitjana des de l'estimulació.

5.2 SIGNIFICAT FUNCIONAL DELS CANVIS OBSERVATS A L'LFP D'IL

5.2.1 *El patró oscil·latori observat a IL podria representar un substrat funcional relacionat amb la modulació de la resposta d'estrès*

Com s'ha explicat anteriorment, els paràmetres que s'han fet servir per estimular CeA als nostres experiments van ser adaptats del treball de Forster i col·laboradors del 2008. Al seu torn, aquests autors

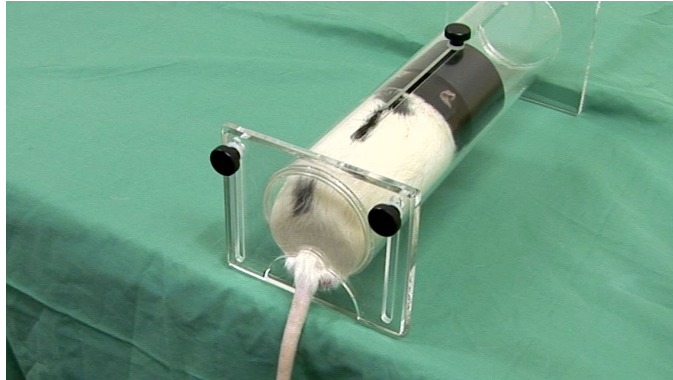


Figura 34: Dispositiu per sotmetre una rata a un procés d'immobilització.

els ajustaren a partir dels registrats a CeA en altres experiments en què es sotmetia els animals a un paradigma d'estrès per immobilització, o el que en anglès es coneix com *restraint* (Henke, 1983). Per tant, l'estimulació elèctrica de CeA amb aquestes característiques equivaldria neuralment a sotmetre els animals a un estrès agut per immobilització. El paradigma comportamental consisteix en immobilitzar l'animal mitjançant un dispositiu cilíndric suficientment estret com per impedir el moviment (figura D1). Està ben establert en la literatura que aquest és un mètode eficaç per induir estrès (Pfeiffer, 1967), i de fet és un paradigma que s'utilitza de manera habitual en l'experimentació en aquest camp.

D'acord amb la hipòtesi que l'estimulació de CeA siga un model adequat de generació d'estrès, s'ha comprovat que origina l'activació de l'eix HHA (Gray, 1993; Lowry, 2002), i l'augment dels nivells de CRH en plasma (Sinton *et al.*, 2000; Forster *et al.*, 2008), fins un 300% respecte a l'estat basal (Henke, 1983; Forster *et al.*, 2008). Aquests valors coincideixen amb els increments que s'observen en sotmetre l'animal a immobilització (Henke, 1983; Sinton *et al.*, 2000).

Basant-nos en aquest fet, una de les hipòtesis que plantegem per interpretar el patró oscil·latori que descrivim a IL, és que aquest podria representar el substrat funcional pel qual IL intervinguera en la gestió de la resposta front a l'estrès induït per l'activació de CeA. En un treball previ, Forster *et al.* (2006) avaluaren quin era l'efecte de la injecció de CRH a RD en rata desperta sobre el comportament de por dels animals, mesurat com a nivell de *freezing*. Com ja s'ha descrit, la CRH és un important modulador dels comportaments relacionats amb estrès o ansietat, així com de l'alliberament de 5-HT. En arribar a RD, la CRH afavoreix l'output serotoninèrgic sobre CeA, entre d'altres regions, la qual cosa origina la seua activació. En conseqüència, la injecció de CRH a RD equival a activar CeA. A més, la injecció de CRH a RD indueix expressió de *freezing* de manera immediata, acom-

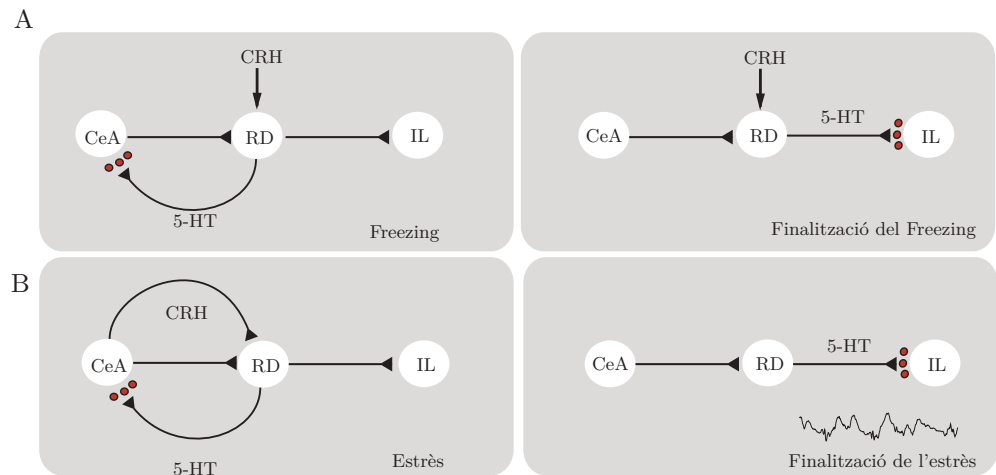


Figura 35: A. Esquema dels resultats de Forster *et al.*(2006), amb l'administració de CRH a RD en rata desperta. Esquerra: en injectar CRH a RD s'observa l'aparició de conducta de freezing coincidint amb l'augment de 5-HT a CeA. Dreta: l'arribada de 5-HT a EPFm correlaciona amb la finalització de la conducta de freezing. Podria coincidir amb la SW a IL del nostre estudi. B. Esquema dels nostres resultats integrats als de Forster et a., 2006. Esquerra: l'estimulació de CeA induïx increment de CRH a RD, la qual cosa provocaria en primer lloc un augment de flux serotoninèrgic sobre la pròpia CeA, afavorint la resposta d'estrès. Dreta: més tard, l'augment de 5-HT a EPFm permetria la finalització de la resposta d'estrès. Coincidiria amb la SW que registrem nosaltres a IL als 42 min d'estimular CeA.

panyat d'increments de CRH en sang i nivells alts de 5-HT a CeA (figura 35A, esquerra). Amb un retard d'uns 60 minuts des de la injecció de CRH a RD finalitza el comportament de *freezing*, coincidint amb nivells significativament elevats de 5-HT a EPFm i la inactivació de l'eix HHA (Forster *et al.*, 2006; figura 35A dreta).

En el treball de Forster *et al.*(2008) queda palès que l'estimulació de CeA activa l'eix HHA de manera immediata, mentre que als 80 minuts descendeixen els nivells de CRH en sang, i per tant, es dona la finalització de l'estrès. Aquesta moment coincideix amb increments significatius de la concentració de 5-HT a EPFm. Pot inferir-se d'aquests resultats que l'activació elèctrica de CeA originaria una descàrrega de CRH sobre RD la qual cosa augmentaria el flux 5-HT sobre la pròpia CeA de manera immediata, el que tindria un efecte ansiogènic. Posteriorment, s'observarien augments de 5-HT a EPFm, i aquest flux es relacionaria amb la finalització dels comportaments de por (figura 35B; Forster *et al.*, 2008).

Els nostres resultats indiquen als de 42 minuts després d'estimular CeA a l'LFP d'IL s'observa un canvi substancial d'activitat. Aquest canvi consisteix en un augment molt significatiu d'ona lenta, acompanyada d'activitat ràpida acoblada (*spindles*) i també incursions sig-

nificatives d'oscil·lació theta. Per la temporalitat amb que es donen els dos efectes, aquest període podria correlacionar-se amb l'observat per Forster en el que disminueixen els nivells d'expressió de *freezing* i d'activació de l'eix HHA (figura 35B, dreta). El període de temps previ, des de l'estimulació fins que apareix aquest estadi oscil·latori a IL, podria correspondre's amb període definit per Forster i col·laboradors al treball d'injecció de CRH a RD (Forster *et al.*, 2006) immediat a la injecció, durant el qual té lloc l'expressió de la resposta d'estrès.

En coherència amb la hipòtesi que proposem s'ha de comentar que en molts trastorns neuropsiquiàtrics relacionats amb l'estrès s'ha descrit l'alteració de les ones de freqüències lentes (SW; Nakao *et al.*, 2013). Fins i tot, aquesta alteració es proposa com a factor indicatiu en algunes patologies amb aquesta component, com és el cas de l'estrès crònic (Kolassa *et al.*, 2007), l'esquizofrènia (Basar-Eroglu *et al.*, 2008) o la depressió (Fenzl *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012). En el mateix sentit, també s'ha descrit disminucions de les SW durant la son en pacients amb depressió, tant en estadis REM com NO-REM de la son (Ehlers *et al.*, 1996; Gillin *et al.*, 1979; Reynolds *et al.*, 1993; Antonijevic, 2008).

També s'ha detectat en malalts d'alcoholisme una reducció significativa d'oscil·lacions delta (1.0 – 3.0Hz) i theta (3.5 – 7.0Hz) en EPF, que s'associa a deficiències en la inhibició comportamental (Kamara-jan i Porjesz, 2015). D'igual manera, s'ha comprovat que durant la inhibició per part d'IL de comportaments de por induïts per l'amígdala i també per hipocamp, la comunicació entre aquestes estructures també es dona mitjançant una alta coherència en la banda theta (Lesting *et al.*, 2013). En particular, s'ha vist que hi ha canvis en la direccionalitat en la coherència entre hipocamp, BLA i IL durant els processos d'expressió, consolidació i inhibició de la conducta de por condicionada.

Per tot això, el patró oscil·latori que registrem als nostres experiments passats 42 minuts de l'estimulació podria constituir el substrat funcional pel qual IL poguera inhibir la resposta d'estrès.

5.2.1.1 Possibles substrats anatòmics

La següent pregunta que ens plantejem és quin seria el circuit pel qual IL podria inhibir la resposta d'estrès. Aquest procés implica en termes generals dos camins funcionals: el *freezing* i l'acció doble l'eix HHA.

Pel que fa al *freezing*, la seua expressió s'atribueix a les projeccions de CeA sobre el tronc de l'encèfal (Kim *et al.*, 1993). Per tant, la finalització d'aquesta conducta per part d'IL implicaria la inhibició de CeA. Respecte de l'acció sobre l'eix HHA, IL té un efecte fonamentalment activador (Sullivan i Gratton, 2002; Radley *et al.*, 2006; Ronzoni *et al.*, 2015), degut a les seues projeccions sobre l'hipotàlem (Hurley *et al.*, 1991), el nucli de l'estria terminal, l'amígdala medial i central i el nucli

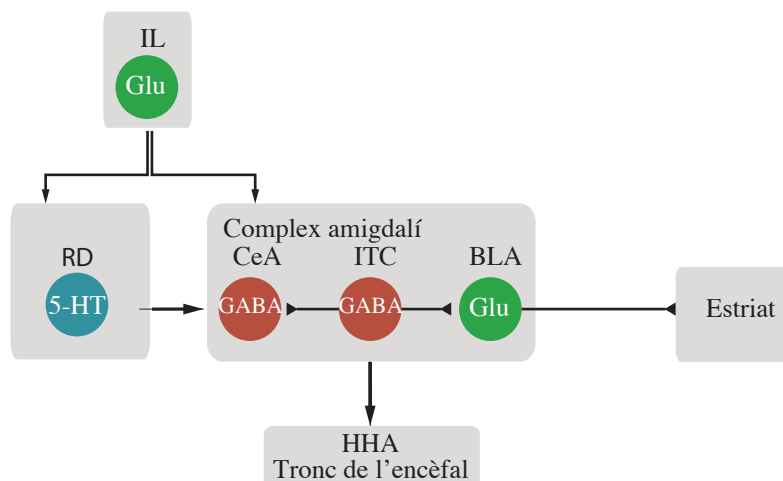


Figura 36: Projeccions implicades en la regulació de la resposta d'estrès. Verd: projeccions glutamatèrgiques (Glu); Roig: projeccions GABAèrgiques (GABA); Blau: projeccions serotoninèrgiques (5-HT). Abreviatures: IL: escorça infralímbica; ITC: neurones intercalades de l'amígdala; CeA: nucli central de l'amígdala; BLA: amígdala basolateral; RD: nucli dorsal del rafe; HHA: eix hipotàlem hipofisari adrenal.

del tracte solitari (Hurley *et al.*, 1991; Takagishi i Chiba, 1991; Crane *et al.*, 2003). En aquest cas, IL no inactivaria directament l'eix HHA. En tot cas, la seua activitat podria donar lloc a un efecte inhibitor a través de projeccions intermèdies. Una d'aquestes connexions possibles és la pròpia amígdala. Per tant la inhibició de l'amígdala i en concret CeA per part d'IL podria dur a la inhibició de les conductes d'estrès.

Les eferències d'IL sobre CeA són escasses, però en canvi IL projecta massivament sobre les cèl·lules intercalades de l'amígdala (ITC; McDonald *et al.*, 1996; Pinto i Sesack, 2002). Les ITC són masses de cèl·lules GABAèrgiques, situades entre BLA i CeA (Nitecka i Ben-Ari, 1987; McDonald i Augustine, 1993; Paré i Smith, 1993a) que si projecten sobre CeA i sobre les que exerceixen una forta inhibició (Paré i Smith, 1993b; Royer *et al.*, 1999). S'ha comprovat que l'activació de les ITC per part d'IL evoca una inhibició de l'activitat de CeA (Quirk *et al.*, 2003; Berreta *et al.*, 2005; Vidal-Gonzalez *et al.*, 2006). Per tant, la connexió IL-ITC-CeA és una candidata ideal com a substrat de la inhibició d'IL sobre CeA (figura 36; Royer i Paré, 2002; Quirk *et al.*, 2003).

D'altra banda CeA també rep aferències glutamatèrgiques des de BLA, crítiques en processos d'aprenentatge i expressió de por condicionada (LeDoux, 2000). Així, l'administració d'agonistes GABA_A a BLA, redueix les conductes d'ansietat (Scheel-Kruger i Petersen, 1982; Petersen *et al.*, 1985; Muller *et al.*, 1997; Jasnow i Huhman, 2001), com és el *freezing* condicionat (Holahan i White, 2004). Cal esmentar que

l'activitat de BLA pot ser modulada per projeccions des d'IL (Smith i Pare, 1994; Pare *et al.*, 1995; McDonald *et al.*, 1996; Pitkanen *et al.*, 1997; Vertes, 2004) i també per les ITC, amb les què manté connexions recíproques (Asede *et al.*, 2015). Per tant IL, també podria modular l'activitat de CeA via BLA, de manera directa o també indirecta via les ITC (figura 36).

D'altra banda, és important destacar que BLA intervé sobre la generació de respostes comportamentals front a l'estrès mitjançant connexions amb l'estriat (Puglisi-Allegra i Andolina, 2015), en particular, sobre el nucli accumbens (McDonald *et al.*, 1992; Sha *et al.*, 2003). Així, s'ha demostrat que els nivells de dopamina a l'Acb, són dependents dels nivells de GABA a BLA, i que aquests nivells depenen al seu torn del flux de 5-HT en EPFm. Per tant, els nivells de 5-HT a EPFm modulen a través de la regulació de BLA conductes actives o passives (Puglisi-Allegra i Andolina, 2015). Convé esmentar que les projeccions d'IL sobre BLA són minoritàries, i que la divisió de l'EPFm que hi projecta massivament és PL. Malgrat això, no podem descartar la influència d'IL sobre BLA i la seua capacitat de modular el tipus de resposta originada front a un estressor (figura 36).

Per últim, l'altra estructura que IL podria modular el propi RD. Tant IL com PL mantenen fortes connexions amb RD (Hajos *et al.*, 1998; Jankowski i Sesack, 2004) i mantenen aferències amb interneurons GABAèrgiques de RD (figura 36) (Hajos *et al.*, 1998; Celada *et al.*, 2001) i, encara que amb menor rellevància, també sobre les pròpies neurones serotoninèrgiques, (Jankowski i Sesack, 2004). A través d'aquests inputs, IL pot modular el flux serotoninèrgic de RD sobre altres regions, amb un efecte predominantment inhibitori (Hajos, 1998; Jankowski i Sesack, 2004). Com hem descrit, la 5-HT té un efecte activador de CeA, per tant, la disminució la 5-HT en amígdala baixarà la seua activitat. En conclusió, en inhibir RD, IL inhibeix l'output des de CeA (Forster *et al.*, 2008). En coherència, s'ha demostrat que la influència inhibitoria que exerceix l'EPFm a RD està relacionada directament amb la cessió de conductes de por/*freezing* (Amat *et al.*, 2008). A més de que les projeccions d'EPFm sobre RD es relacionen amb la inhibició de les respostes de tipus passiu (*freezing*), en benefici d'estratègies d'afrontament actives. Aquest procés també es relaciona amb la modulació per part d'EPFm dels outputs des de RD (Puglisi-Allegra i Andolina, 2015).

En conclusió, la manifestació de conductes actives o passives front a un estressor podria estar regulada per IL mitjançant la modulació dels outputs des de CeA i BLA i també RD. Pot ser el patró oscil·latori que registrem als nostres experiments estiguera relacionada amb la capacitat d'IL de portar a terme aquesta funció.

5.2.1.2 *La 5-HT té un paper crític en la capacitat d'IL de modular l'activitat d'estructures del circuit de l'estrès*

Segons hem discutit als apartats anteriors, la SW que observem als nostres experiments seria atribuïble a l'arribada de 5-HT des de RD. Una de les interpretacions funcionals que li hem donat és que podria representar el substrat funcional pel que IL participara de la inhibició de la resposta d'estrès modulant amígdala i DR.

Com s'ha descrit prèviament, l'arribada de 5-HT a l'EPFm pot tenir un efecte excitatori o inhibitori (Aghajanian i Marek, 1997; Hajos *et al.*, 1998; Celada *et al.*, 2001; Amargos-Bosch *et al.*, 2004; Puig *et al.*, 2005), amb una influència directa sobre els outputs d'aquesta àrea. Encara que es important assenyalar que s'ha descrit una acció preferent de serotonina sobre les neurones piramidals de la capa V a l'EPF, on indueix corrents postsinàptiques excitadors (Lambe *et al.*, 2000).

L'arribada de 5-HT a l'escorça té un paper molt rellevant en la capacitat d'inhibir l'amígdala (Fisher *et al.*, 2009). S'ha descrit que, en persones sanes davant 5-HT_{1A} un estimul estressant, es produeix un acoblament entre EPFm i amígdala que permet la influència inhibidòria per part d'EPFm (Veer *et al.*, 2011). També s'ha vist que la reactivitat de l'amígdala es correlaciona inversament amb la unió de 5-HT a receptors 5-HT_{2A} a EPFm (Fisher *et al.*, 2009), i en coherència amb aquestes dades, s'ha comprovat que la interrupció global de l'expressió de receptors 5-HT_{2A} en l'escorça, en ratolins modificats genèticament, redueix la capacitat d'inhibició de la resposta d'ansietat (Weisstaub *et al.*, 2006). És per això que alguns autors atribueixen a aquests receptors un efecte ansiolític (Ripoll *et al.*, 2005, 2006; Weisstaub *et al.*, 2006).

Per altra banda, l'activació dels 5-HT_{1A} també intervé en la influència que l'EPFm exerceix sobre l'activitat de l'amígdala. En aquest sentit, l'activació dels 5-HT_{2A} sobre la capacitat d'EPFm per inactivar l'amígdala només es dona quan els nivells 5-HT_{1A} son baixos, donant-li importància a la interacció d'ambdós receptors en la regulació de l'activitat de l'amígdala (Fisher *et al.*, 2011). Altes concentracions de 5-HT a EPFm provoquen una intensa activació dels receptors 5-HT_{1A}, la qual cosa disminueix l'output des d'EPFm, que es tradueix en inhibició de BLA, i per tant, en la reducció de l'output glutamatèrgic des d'aquesta sobre a l'estriat. La conseqüència és la manifestació d'una conducta passiva. En canvi, nivells baixos de 5-HT activarien en menor mesura els receptors 5-HT_{1A}, facilitant les projeccions des d'EPFm. D'aquesta manera, els nivells de GABA en BLA serien menors, i així es facilitaria la manifestació d'una conducta activa des de l'estriat (Puglisi-Allegra i Andolina, 2015).

D'altra banda, les projeccions glutamatèrgiques de l'EPFm sobre RD representen un constant feedback negatiu a sobre les eferències serotoninèrgiques de RD (Puglisi-Allegra i Andolina, 2015). L'EPFm envia projeccions a RD que proporcionen un substrat de control inhibi-

tori en l'alliberament 5-HT (Hajos *et al.*, 1998; Sesack *et al.*, 1989). S'ha vist que l'EPFm exerceix una influència inhibidòria sobre les cèl·lules 5-HT del RD activades específicament per l'estrès, quan aquest és controlable (Amat *et al.*, 2005). És a dir, amb aquesta inhibició s'afavoreix una conducta activa. S'ha pogut comprovar que aquest efecte s'afavoreix davant de nivells alts de 5-HT a l'escorça.

Per tant, segons aquestes idees, l'augment de 5-HT a IL podria afavorir la seua capacitat per inhibir CeA i RD, i a més, l'empremta electrofisiològica d'aquest fenomen podria ser la SW que registrem als nostres experiments.

5.2.2 *La SW podria estar en la base de la consolidació d'informació amb contingut emocional*

Als punts anteriors hem discutit que la oscil·lació observada a IL als nostres experiments podria representar el substrat funcional pel qual l'EPFm modularia l'activitat de CeA a la baixa, el que comportaria reduccions en l'activitat de l'eix HHA i de l'expressió de *freezing*. Però no podem descartar altres hipòtesis.

Com hem vist, l'estimulació elèctrica de CeA genera l'aparició d'una oscil·lació lenta de característiques particulars i ben definides: presenta acoblades *spindles* i incursions significatives de pics theta que no es detecten en el període control.

Les SW (<1 Hz) es relacionen principalment amb alguns dels estadis de la son (Van Someren *et al.*, 2011; Mölle i Born, 2011), i la seua presència, lluny de tractar-se d'un estat silent, representa períodes de processament d'informació (Steriade *et al.*, 1993a; Mölle i Born, 2011). Es tracta d'ones característiques de l'escorça cerebral, i en particular de regions anteriors de l'escorça prefrontal (Van Someren *et al.*, 2011). Per tractar-se d'una oscil·lació de baixa freqüència, les SW proporcionen un substrat adequat per a intercanviar informació amb regions distants (Buzsaki *et al.*, 2013), relacionant-se la seua presència amb l'activitat de grans xarxes neuronals distribuïdes. Les ones lentes generen en els substrats neurals, la sincronització de les fluctuacions de potencials de membrana de grups neuronals en una gran xarxa, principalment en l'escorça i amb estructures subcorticals com ara tàlem, hipocamp i el tronc de l'encèfal (Steriade *et al.*, 1993a 1993b).

Avui en dia és plenament reconegut que les SW són el substrat funcional de processos cognitius rellevants, com processos de memòria i aprenentatges (Buzsaki, 1989; Gais i Born, 2004; Marshall *et al.*, 2006). Aquestes oscil·lacions són pròpies de l'estadi No REM de la son (Van Somersen, 2011), i mostren una major amplitud en especial quan major ha sigut la informació processada durant la vigília (Huber *et al.*, 2004; Schwindel i McNaughton, 2011). Es considera que durant els períodes REM, es dona una transferència de la informació del neocòrtex a l'hipocamp, associat a la predominança d'oscil·lació

theta i gamma. La fase on predomina la SW, es caracteritza per ser un període actiu, on es consolida la informació, i es transfereix de nou a l'escorça (Born, 2010) generant memòria de consolidació a llarg plaç (Marshall *et al.*, 2006). Per tant, la presència de SW a la son, està vinculada amb la redistribució de la informació d'hipocamp a l'escorça (Born, 2010). També es relaciona aquesta activitat lenta durant la son No REM amb la relació recíproca entre tàlem i EPF en períodes crítics per al processament de memòria i consolidació a llarg plaç (Born, 2010).

Les SW poden anar associades a oscil·lacions de freqüències altes superposades, com són les *spindles* i les *ripples* hipocampals. Les *spindles* es caracteritzen per ser ones ràpides (7-14 Hz) que acompanyen a l'ona lenta; aquesta associació es relaciona amb la interacció tàlamo-cortical (Steriade, 2006). La detecció de *spindles* en les oscil·lacions cerebrals a l'escorça es correlaciona amb un augment de l'activitat en aquesta àrea (Steriade *et al.*, 1996; Born, 2010) i la plasticitat neural (Rosanova i Ulrich, 2005). En els últims anys, les *spindles* han estat estudiades com a possibles marcadors neurofisiològics de processament de memòria (Fogel i Smith, 2011; Lüthi, 2013) ja que s'ha demostrat la seua presència en processos de retenció de memòria durant la son especialment en els períodes no REM (Born, 2010). En concret, els estadis de la son on predomina la SW amb presència de *spindles* afavoririen la redistribució de la informació hipocampal a l'escorça (Siapas i Wilson, 1998; Marshall, 2006; Mölle *et al.*, 2011 review). De fet, els dèficits cognitius que es manifesten en edats avançades es relacionen amb una disminució en la presència de SW i *spindles* en la son No REM (Lafortune *et al.*, 2013). En correspondència amb això, la inducció farmacològica de *spindles*, augmenta i millora la capacitat de memorització (Mednick *et al.*, 2013) i la coherència amb l'activitat d'altres estructures del prosencèfal (Moruzzi i Magoun, 1949). També s'ha comprovat en experiments *in vitro*, que l'augment de *spindles* i la sincronització d'aquestes amb les SW representen un element clau en la generació de plasticitat neuronal i sinàptica (Rosanova i Ulrich, 2005).

És per això que el patró oscil·latori que hem descrit en aquest treball també podria considerar-se el substrat funcional pel qual estiguera produïnt-se un procés d'aprenentatge o consolidació de memòria. Tenint en compte que aquesta oscil·lació ocorre o es manifesta després que l'animal haja experimentat un esdeveniment de caràcter emocional, com és l'activació de CeA, podríem considerar que, en particular, podria tractar-se de la consolidació dels canvis plàstics que puguen haver-se donat durant l'estrès agut.

5.3 LA SW REGISTRADA A IL PODRIA DEPENDRE DE 5-HT

5.3.1 *L'estimulació de CeA indueix un augment del flux de 5-HT des de RD sobre EPFm*

Com hem descrit prèviament, l'estimulació de CeA aplicada en aquest treball, ha estat adaptada del treball Forster i col·laboradors (2008). Al seu treball, els autors avaluen els efectes de l'activació de CeA sobre els nivells de 5-HT a EPFm. Els resultats obtinguts indiquen que l'estimulació elèctrica de CeA augmenta de manera significativa el flux de 5-HT en EPFm. A més, comproven que aquesta 5-HT prové de RD, i en particular és dependent de l'activació dels receptors CRH de tipus 2 (CRHR₂) a RD (Forster *et al.*, 2008).

Convé destacar que en aquests experiments l'increment de 5-HT a EPFm no s'observa de manera immediata, sinó amb un retard d'uns 80 minuts respecte de l'estimulació (Forster *et al.*, 2008). Com hem descrit prèviament, als nostres experiments registrem l'aparició d'una SW particular passats uns 40 min després d'activar CeA. Donat que ambdós fenòmens es donen de manera retardada en el temps respecte de l'estimulació, la nostra hipòtesi és que la manifestació d'aquest patró oscil·latori seria coincident amb el flux serotoninèrgic a IL que detecten Forster i col·laboradors, 2008 (figura 35B).

5.3.2 *La generació de l'oscil·lació requereix de l'activitat de RD*

En coherència amb aquesta hipòtesi, resultats d'aquesta Tesi demostren el requeriment de l'activitat del RD per al manteniment de l'SW evocada. En el experiment 2 plantejarem en aquests experiments l'estimulació elèctrica de CeA amb el registre l'LFP d'IL però en aquest cas amb inactivació condicionada de RD. La inhibició s'aplicava en observar a IL una predominança de SW, de manera que podíem verificar la dependència de RD per al manteniment del patró d'ones lentes. RD està format principalment per neurones serotoninèrgiques i interneurons GABAèrgiques, la majoria de les quals projecten sobre les pròpies serotoninèrgiques (Molliver, 1987). Tot i que la majoria de les eferències de RD sobre EPFm són serotoninèrgiques (Meloni *et al.*, 2008), la presència d'una població local de neurones GABAérgiques serveix com a mecanisme experimental d'inactivació temporal del nucli, mitjançant la infusió d'agonistes GABA_A. L'activació de les interneurons GABAérgiques amb muscimol té com a conseqüència la inactivació de les serotoninèrgiques amb la disminució del flux postsinàptic de 5-HT sobre les seues dianes, entre elles EPFm (Harandi *et al.*, 1987; Wang *et al.*, 1992). Els resultats van mostrar que en produir la inactivació de RD, el perfil oscil·latori d'IL retorna a un estat basal: hi ha un descens en la potència de l'ona lenta, augmentant de nou la proporció de delta; a més, la freqüència mitjana torna a

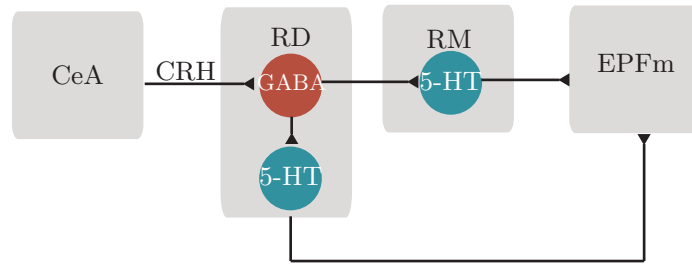


Figura 37: Esquema que il·lustra el neurocircuit proposat com a substrat de l'alliberament de 5-HT induït per l'activació de CeA (modificat de Forster et al., 2008). Podria ocórrer que les projeccions CRH des de CeA inhibeixen les cèl·lules GABAèrgiques de RD, la qual cosa desinhibeix les 5-HT, augmentant el flux serotoninèrgic sobre EPFm. Però també podria ocórrer que aquest efecte desinhibeix les serotoninèrgiques del RM.

valors >1 Hz. Per tant, aquest experiment permet concloure que l'oscil·lació lenta que es registra en IL com a conseqüència a l'estimulació de CeA requereix de l'activitat del RD, si més no per mantenir-se.

Una possibilitat que pogués explicar que l'SW apareguera amb un retard d'aquesta magnitud podria ser la participació d'una estructura intermediària. Als seus treballs, Forster *et al.* (2008) discuteixen el retard amb què augmenta significativament a l'EPFm atribuint-li un paper d'intermediari al nucli del rafe medial (RM). RM és també un nucli clau en la modulació de les conductes emocionals (Andrade *et al.*, 2013), per tant té sentit que la seua activitat estiga implicada en els fenòmens relacionats amb la gestió de l'estrès i que també envia projeccions serotoninèrgiques sobre l'EPFm (Meloni *et al.*, 2008). Segons aquests treballs, l'increment de 5-HT a EPFm per injecció de CRH a RD no ocorre si s'inactiva RM amb agonistes GABAèrgics. Conclouen així que el retard amb què s'observa l'augment de 5-HT a EPFm es deuria a la presència d'una connexió multisinàptica (figura 37; Forster *et al.*, 2008). Com que les evidències electrofisiològiques (Pernar *et al.*, 2004) suggereixen que l'activació dels receptors CRH2A al RD inhibeix les neurones GABAèrgiques, i per tant augmenta el flux serotoninèrgic sobre múltiples regions encefàliques, com ara el nucli accumbens (Lukkes *et al.*, 2008) i CeA (Forster *et al.*, 2006), seria factible pensar que l'activació dels receptors CRHR2 inhibisca les neurones GABAèrgiques del RD que projecten sobre el RM, desinhibint les neurones 5-HT d'aquest nucli que projecten sobre l'EPFm, el què resultaria en un augment de la 5-HT. També podria ocórrer que la desinhibició de les neurones 5-HT a RM per acció de la CRH, incrementara el flux de 5-HT sobre RD (Mosko *et al.*, 1977), i que aquesta inhibiria les neurones GABAèrgiques del RD mitjançant l'activació dels receptors 5-HT_{1A} (Day *et al.*, 2004), contribuint també a l'augment de 5-HT a EPFm.

En qualsevol cas, és evident que entre els nostres resultats i els de Forster *et al.*, 2008, hi ha una diferència en la durada dels *delays*. Podria ser deguda per una part a que les variables mesurades són magnituds diferents. És a dir, és possible que siga més ràpid detectar canvis en l'activitat elèctrica, com en els nostres experiments, que detectar increments significatius en la concentració de 5-HT (Forster *et al.*, 2008). Una altra possibilitat per explicar aquesta diferència podria ser la diferència de protocol. De fet, trobem altres dades en la bibliografia d'experiments molt similars amb resultats variables. Com s'ha descrit, el patró d'activació de CeA que hem realitzat ha estat escollit perquè correspon amb els paràmetres registrats a CeA quan a l'animal se'l sotmet a un paradigma d'estrès agut per immobilització (Sinton *et al.*, 2000). S'ha demostrat que l'exposició a aquesta immobilització provoca en rata desperta un augment de 5-HT a EPFm, i que tampoc no es detectable de manera immediata, sinó amb un retard d'uns 60 min (Pascucci *et al.*, 2009). Altres treballs més recents també han descrit augments fins del 150% de 5-HT en EPFm com a conseqüència de sotmetre l'animal a immobilització, en aquest cas amb delays de 40 min i que es prolonguen fins els 120 min (Andolina *et al.*, 2013).

5.3.3 *L'activitat lenta a IL és atribuïble a un increment en el flux serotoninèrgic des de RD*

En recolzament també a la nostra hipòtesi que relaciona la SW a IL amb increments de 5-HT, val a dir que hi ha múltiples dades a la bibliografia que demostren que el flux 5-HT a EPFm des de RD afavoreix l'aparició d'ones lentes a l'escorça. Les neurones 5-HT a rafe es caracteritzen per disparar a bandes de freqüència lenta (0.3-5Hz) amb patrons regulars (Aghajanian i VanderMaelen, 1982). Específicament, les neurones 5-HT de RD, sota anestèsia d'hidrat de cloral disparen a una freqüència d'1 Hz i de manera rítmica (Celada *et al.*, 2001). S'ha demostrat que l'estimulació de RD indueix l'alliberament massiva de 5-HT a l'EPF (McQuade i Sharp, 1995; Gartside *et al.*, 2000). En particular, l'estimulació elèctrica de RD amb paràmetres que repliquen la seua activitat oscil·latòria d'0.9 Hz, incrementa els nivells serotoninèrgics a l'EPFm (Gartside *et al.*, 2000). És de destacar que la freqüència mitjana que nosaltres calculem als nostres experiments és de d'0.85 Hz. La similitud entre aquests valors recolza també la idea que la SW que observem es puga deure a l'activitat serotoninèrgica del RD.

En aquest sentit, l'arribada de 5-HT a EPFm modula l'aparició de SW, afectant a la freqüència, magnitud i sincronització d'aquesta activitat lenta (Puig i Gullledge, 2011). Aquest efecte es deurà a la interacció de la 5-HT amb els receptors 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A} amb funcions contràries sobre les cèl·lules piramidals (Puig *et al.*, 2003; Amargos-Bosch

et al., 2004), com ja s'ha descrit. Aquest efecte oposat dels receptors fa difícil predir quin serà l'efecte net de l'arribada de 5-HT a EPFm, però en qualsevol cas, sembla que l'efecte general de l'activació dels receptors 5-HT és afavorir freqüències de disparament menors, amb predomini d'ona lenta (Gartside *et al.*, 2000; Puig *et al.*, 2005). Totes aquestes dades recolzen per tant la hipòtesi que la SW que registrem a IL es dega a l'arribada de 5-HT des del RD.

5.4 ESTUDI SOBRE L'EFECTE DE L'ESTIMULACIÓ CEREBRAL PROFUNDA DEL NUCLI ACCUMBENS *core* EN L'ACTIVITAT DE L'ESCORÇA INFRALÍMBICA.

L'estimulació cerebral profunda (ECP) consisteix en l'aplicació de polsos elèctrics d'alta freqüència a través d'elèctrodes que s'implanten en regions concretes de l'encèfal. Malgrat que el seu desenvolupament s'originà per al tractament de desordres motors (Benabid *et al.*, 2007; Gionfriddo *et al.*, 2013), cada vegada s'empra més com a teràpia per a malalts neuropsiquiàtrics com les addiccions (Pierce i Vassoler, 2013), la depressió (Delaloye *et al.*, 2014), el trastorn obsessiu compulsiu (TOC; Goodman *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2013; Gionfriddo *et al.*, 2013), entre altres.

En molts d'aquests casos, el nucli en el qual s'implanta l'elèctrode és el nucli accumbens (Van Dijk *et al.*, 2012; Salgado i Kaplitt, 2015; Vassoler, 2008; Salgado i Kaplitt, 2015). L'eficàcia terapèutica de l'ECP a l'Acb està relacionada amb el seu paper en la regulació de processos motivacionals i les seues connexions amb estructures límbiques (Mogenson *et al.*, 1980; McCracken i Grace, 2007; Floresco, 2015). En particular, l'Acb *shell* és la part integradora i codificadora (d'hipocamp i amígdala central, ATV; Heimer *et al.*, 1991; Zahm i Heimer, 1993), mentre que el *core* és responsable de la generació de la conducta motora associada al valor de l'estímul (Salamone, 1992). La funció de l'Acb està alterada en desordres afectius com l'anhedònia (Gorwood, 2008), la depressió, el trastorn obsessiu compulsiu (Floresco, 2015) i la manifestació de conductes impulsives (Basar *et al.*, 2010). I també es veu afectada per l'exposició a estrès (Abercrombie *et al.*, 1989; Imperato *et al.*, 1991; Puglisi-Allegra *et al.*, 1991; Doherty i Gratton, 1992). L'efecte terapèutic de l'ECP tant en desordres motors com afectius, sembla deure's a que afavoreix la sincronització de l'activitat oscil·latòria entre les estructures i circuits neuronals implicats en la patologia en qüestió (Mc Craken i Grace, 2009; Ewing i Grace, 2013).

Per tot això, en la segona part d'aquesta Tesi hem estudiat com afecta en l'activitat oscil·latòria d'IL, l'aplicació d'estimulació d'alta freqüència al *core* del nucli accumbens.

5.5 L'ECP D'ACBCO INDUEIX A IL UN PATRÓ OSCIL·LATORI CARACTERÍSTIC AMB PREDOMINANÇA D'SW

Per realitzar l'estimulació d'alta intensitat a l'AcbCo als nostres experiments, utilitzarem paràmetres emprats en la pràctica clínica i que han demostrat tenir beneficis terapèutics (McCraken i Grace, 2007; Knight *et al.*, 2013; Schmuckermair *et al.*, 2013). Aquests paràmetres consisteixen en l'administració de polsos a 130 Hz durant 60 ms i 50 μ A de manera aguda durant 300 s. L'elèctrode d'estimulació es va fixar de manera específica al *core* del nucli accumbens (AcbCo), donat que aquesta àrea és diana habitual en cirurgies d'estimulació profunda amb objectiu clínic (Sturm *et al.*, 2003; Aouizerate *et al.*, 2005).

Els nostres resultats indiquen que l'estimulació cerebral profunda aplicada bilateralment a l'AcbCo, provoca un canvi en el patró oscil·latori d'escorça infralímbica. En concret, les anàlisis mostren que en el període basal predomina una oscil·lació delta, amb una freqüència mitjana major a >1 Hz. Aquest valor és coherent amb els patrons caracteritzats per als registres control dels experiments anteriors i també amb la descrita com típica d'anestèsia (Landolt, 2011). Després d'estimular l'AcbCo, però, s'observa un canvi a l'LFP, de manera que s'arriba a un estat amb predomini d'ona lenta. També augmenta de manera significativa la potència de la banda theta. Aquest canvi s'inicia immediatament després d'acabar l'estimulació però es va fent més patent de manera progressiva, fins que s'estabilitza als X minuts després d'acabar l'estimulació. Aquest increment en la proporció d'SW, és coincident amb altres treballs on es veu que l'ECP a l'AcbCo provoca un augment de la potència de les ones lentes a l'escorça orbitofrontal (McCraken i Grace, 2007, 2009).

5.6 INTERPRETACIÓ FUNCIONAL DE LA SW ORIGINADA PER L'ECP D'ACBCO

5.6.1 Relació amb la gestió de l'estrès

L'efecte de l'ECP de l'Acb sobre l'LFP d'IL que descrivim en l'últim dels experiments consisteix fonamentalment en un augment de la potència de les SW. Curiosament, aquest resultat guarda molta similitud amb el descrit en el grup experimental d'estimulació d'amígdala. En aquell cas, amb un retard >30 min després de generar un estrès per activació de CeA, IL adquireix un patró oscil·latòri que consisteix en una SW de característiques com les descrites. Una de les interpretacions funcionals que hem fet d'aquesta oscil·lació és que representara el substrat funcional pel qual IL poguera interindre sobre la gestió de l'estrès, fonamentalment donant lloc a la seua inhibició. Per tant, cabria pensar que l'ECP de l'AcbCo facilitaria que IL adquirira el

patró d'activitat neuronal pel qual fora capaç d'intervindre sobre la limitació de la resposta d'estrès.

Si atenem a la bibliografia, sobre tot si acudim als estudis sobre patologies mentals amb component d'estrès, ens adonem que els efectes de l'ECP sobre la conducta de malalts psiquiàtrics poden ser, en certa mesura, entesos des d'aquest punt de vista. Moltes de les patologies mentals sobre les que tèn un efecte terapèutic l'ECP (Ewing i Grace, 2013), estan relacionades amb una incorrecta gestió de l'estrès, com el trastorn obsessiu compulsiu (Tye *et al.*, 2009; Greenberg *et al.*, 2010; Van Dijk *et al.*, 2012; Koek *et al.*, 2014), el trastorn depressiu major, l'anorèxia nerviosa i el consum de substàncies (Naesstrom *et al.*, 2016) i la depressió (Delaloye *et al.*, 2014). La millora en els símptomes que genera l'ECP, podria residir almenys en part en què facilitara que que l'IL adquiria un estat a partir del qual fora més eficaç en l'ajust d'aquesta resposta.

En coherència amb aquesta idea, en models de depressió/ansietat en ratolí s'ha vist que l'ECP de l'Acb redueix els comportaments d'ansietat exagerada i millora símptomes depressius (Schmuckermair *et al.*, 2013). En pacients diagnosticats de TOC, l'ECP en accumbens promou una recuperació de símptomes propis de la malaltia com l'ansietat (Sturm *et al.*, 2003; Denys *et al.*, 2010), a més d'afavorir una reducció de la funció de l'escorça orbitofrontal (Nuttin *et al.*, 2003; Abelson *et al.*, 2005), augmentada en aquests pacients (Swedo *et al.*, 1989).

5.6.1.1 *Importància de les oscil·lacions lentes*

Si la nostra hipòtesi fora certa, les SW representarien un substrat per a una major eficàcia en el control de l'estrès i podrien veure's alterades en comportaments disfuncionals o patològics. En coherència, hi ha moltes dades a la bibliografia que indiquen que efectivament els patrons oscil·latoris lents no són normals en malalts psiquiàtrics. Fins i tot s'ha postulat l'alteració d'aquesta activitat oscil·latòria com a marcador biològic del trastorn depressiu major (Duncan i Zárate, 2013); i en estudis clínics, l'administració de tractaments antidepressius restaura l'activitat normal SW (Duncan *et al.*, 2013). La reducció de l'activitat oscil·latòria lenta també s'ha demostrat experimentalment en models de depressió en animals anestesiats (Zheng i Zhang, 2015; Voget *et al.*, 2015); i en pacients amb esquizofrènia també s'ha descrit l'existència d'una alteració en la coherència oscil·latòria entre les bandes SW i gamma (Hoffmann *et al.*, 2000; Spencer *et al.*, 2003; Cho *et al.*, 2006).

A més a més, en recolzament d'aquesta hipòtesi s'ha demostrat que l'ECP genera augment de la potència d'ones lentes. En rata anestesiada amb uretà, l'estimulació d'AcbCore promou la presència de SW a EPF (Mc Craken i Grace, 2007, 2009). En rata desperta, l'estimulació d'alta freqüència a IL induïx l'aparició espontània de SW en

aquesta mateixa regió (Etiévant *et al.*, 2015). Treballs previs realitzats al nostre grup també han demostrat un canvi en l'activitat electrofisiològica a la banda de SW (Cervera-Ferri *et al.*, en revisió). En aquest estudi, l'ECP a IL en rata anestesiada amb uretà va generar un canvi en l'activitat oscil·latòria lenta i theta en hipocamp i BLA i en la seua sincronització. Concretament, l'ECP augmentà la potència d'ones lentes, delta i theta a l'hipocamp i d'ones lentes, theta i *spindles* a BLA. Les ones lentes, a més, van incrementar l'acoblament entre ambdues estructures, així com la informació mútua en ones lentes i theta. Aquests resultats suggereixen una sincronització més efectiva de l'activitat oscil·latòria en la comunicació entre hipocamp i BLA sota la influència de l'ECP a IL. Per altra banda, també es va produir un increment en l'acoblament fase-amplitud entre ones lentes i freqüències majors (*spindles*, theta i gamma) tant a hipocamp com a BLA, indicant una major sincronització entre l'activitat local de cadascuna de les regions amb l'activitat global de la xarxa IL-HPC-BLA. La presència d'una coherència entre l'hipocamp i BLA a bandes de freqüència SW i theta, evidencia major informació compartida i una associació amb la formació de memòria a llarg termini (Hasselmo, 2005). Per tant, aquest increment en la comunicació en aquesta banda entre estructures, que genera l'ECP a IL podria relacionar-se amb les millores a nivell cognitiu que i la reducció dels comportaments emocionals com l'ansietat dependents de l'amígdala com han mostrat els resultats obtinguts al nostre estudi.

És a dir, l'ECP millora la comunicació entre estructures de circuits relacionats amb la gestió de l'emoció i la motivació i per tant fa més eficient el sistema. En particular, l'ECP sembla tenir un efecte important en afavorir les ones lentes. Per tant, sembla plausible que aquestes oscil·lacions facilitaren la gestió de processos emocionals, com és l'estrès.

5.6.2 Relació amb la consolidació d'aprenentatge i memòria

Com hem descrit amb anterioritat, les SW són ones particularment destacables a l'escorça (Van Someren *et al.*, 2011) que proporcionen un substrat adequat per a intercanviar informació entre àrees (Buzsaki *et al.*, 2013). A més, generen la sincronització de grans poblacions neuronals en l'escorça, i amb estructures subcorticals com ara el tàlem, l'hipocamp i el tronc de l'encèfal (Steriade *et al.*, 1993a 1993b). Avui en dia és plenament reconegut que les SW són el substrat funcional de processos cognitius rellevants, com processos de memòria i aprenentatge (Buzsaki 1989; Gais i Born, 2004; Marshall *et al.*, 2006).

Per tant, podríem plantejar si la SW amb incursions theta produïda per l'ECP d'Acb a IL podria constituir un substrat funcional pel qual s'afavoriren fenòmens de consolidació (Cosyns *et al.*, 2003; Mayberg *et al.*, 2005; Greenberg *et al.*, 2006).

En primer lloc, caldria discutir si l'ECP produeix o no canvis plàstics que puguen donar lloc a un aprenentatge a llarg termini. Hi ha treballs que observen que l'estimulació a altes freqüències com la que apliquem als nostres experiments (130 Hz), és una oscil·lació amb les mateixes característiques que la que es requereix per a la inducció de LTP i que, per tant, l'aplicació de l'ECP equivaldria a generar LTP, afavorint, per tant l'aprenentatge i la memòria (Bliss i Collingridge, 1993). A més a més, hi ha dades que apunten que l'ECP incrementa l'eficàcia i/o la connectivitat sinàptica (Hallet, 2000; Lozano i Lipsman, 2013). S'ha pogut comprobar que, l'ECP genera un augment de la densitat dendrítica (Bennet, 2000); l'estimulació activaria la sinaptogènesi i la formació i engrossament d'espines dendrítiques (Hamani *et al.*, 2010). A més, té un efecte específic en l'augment del nombre de receptors glutamatèrgics (Bennet, 2000). A l'estriat, l'estimulació cerebral profunda, activa un major nombre d'axons, amb un conseqüent efecte en l'augment de l'exposició glutamatèrgica i serotoninèrgica a aquesta àrea (Lujan *et al.*, 2008). D'altra banda, altres estudis han mostrat que l'aplicació d'ECP en el nucli subtalàmic augmenta la supervivència cel·lular a l'hipocamp i el bulb olfactori (Khaindrava *et al.*, 2011). Existeixen treballs que demostren que l'aplicació d'ECP a l'escorça entorrinal promou la neurogènesi, específicament al gir dentat, on es dona lloc la generació de noves cèl·lules que funcionalment es van incorporant al circuit de memòria (Stone *et al.*, 2011a, 2011b). Així mateix, l'ECP a Acb també ha demostrat generar neurogènesi a l'hipocamp (Schmuckermair *et al.*, 2014) i s'han descrit increments dels nivells de BDNF i el seu receptor en pacients depressius (Dowlatshahi *et al.*, 1998). Aquests canvis apareixen en un patró temporal similar als canvis observats a nivell del comportament i l'aprenentatge (Caroni *et al.*, 2014), i per això aquests apunten cap a un alt potencial de l'ECP com a tècnica per a induir plasticitat.

Però malgrat aquests canvis estructurals, i que l'aplicació de l'ECP s'observen beneficis terapèutics en aplicar el tractament, les dades apunten que alguns dels efectes es reverteixen quan aquesta cessa. Això s'ha comprovat, per exemple, en pacients amb TOC als que se'ls va aplicar ECP de l'estriat ventral i se'n va fer un seguiment durant a menys 36 mesos (Greenberg *et al.*, 2006). Aquest estudi demostra una millora dels símptomes molt significativa, però en cas que s'interrompa, la simptomatologia torna a manifestar-se (Greenberg *et al.*, 2006). També s'ha vist que l'ECP a l'escorça cingulada dona lloc a canvis metabòlics a aquesta mateixa regió, la qual cosa s'associa a la disminució dels símptomes depressius, però ambdós factors tornen a nivells patològics al poc temps de cessar l'estimulació (Mayberg *et al.*, 2005; Van Laere *et al.*, 2006). L'aplicació d'ECP a l'AcbCo de rata durant 5 dies, origina canvis progressius en l'electrofisiologia a l'LPF de moltes estructures i a nivell de múltiples bandes de freqüència. Aquests canvis també reverteixen en cessar l'estimulació (Erwing i Grace, 2013).

En conclusió, siga com siga el mecanisme pel qual l'ECP millorar la simptomatologia de les malalties mentals, i malgrat originar canvis plàstics, l'efecte no es consolida (Chen *et al.*, 2012).

L'oscil·lació que nosaltres observem als registres d'IL amb l'aplicació de l'ECP presenta diferències amb la trobada en els experiments d'activació d'amígdala. Una de les característiques que hem descrit en la SW amb ECP és que no manifesta un augment d'*spindles* respecte del registre preestimulació, tot i ser comparables els augments de ritmicitat theta. Com hem discutit, les *spindles* són ones ràpides (7-14 Hz), que apareixen superposades a l'ona lenta i que es relaciona amb la interacció tàlamo-cortical (Steriade *et al.*, 1993a 1993b, Molle *et al.*, 2011), representant una marca electrofisiològica de processos relacionats amb la memòria (Born, 2010), compatible a més amb plasticitat neural (Rosanova i Ulrich, 2005). Per tant, així com el patró oscil·latori que s'observa com a conseqüència d'estimular CeA podria afavorir processos de consolidació a llarg termini, les característiques de la SW que origina l'ECP d'AcbCo sembla que no. Això estaria en coherència amb el fet que les efectes terapèutics de l'ECP depenguen de que s'aplique de manera crònica.

5.7 L'OSCIL·LACIÓ ORIGINADA PER L'ECP DE L'ACBCO A IL PODRIA DEURE'S A INCREMENTS DE 5-HT A IL

Prèviament hem descrit com la SW que s'observa a IL per activació de CeA pot deure's a l'augment de flux serotoninèrgic des de RD. També hem discutit el paper crític que juga RD en l'aparició de la SW cortical als nostres experiments, i hem aportat dades de la bibliografia que justifiquen que la seua activació, i per tant l'alliberament per la seua part de 5-HT sobre IL incrementa en aquesta regió la potència de les ones lentes. La pregunta que sorgeix aleshores, és si la SW que observem en portar a terme l'ECP de l'AcbCo poguera deure's també a un increment d'aquest neurotransmissor.

Existeixen múltiples dades que demostren que l'ECP origina l'alliberament de neurotransmissors, fins i tot a àrees distants al punt en què s'aplica. És pensa inclús, que aquest fenomen represente el substrat del seu efecte terapèutic (Tye *et al.*, 2009). Per exemple, l'aplicació d'estimulació cerebral profunda bilateral al nucli subtalamic (NST) induïx canvis en l'activitat RD-5-HT que es tradueixen en increments dels nivells extracel·lulars de 5-HT a l'EPFm. També s'ha vist que l'ECP a l'EPFm té un efecte modulador del sistema serotoninèrgic que sembla estar en la base del seu efecte antidepressiu (Veerakumar, 2014). A banda de 5-HT, l'aplicació d'ECP a IL ha demostrat augmentar l'alliberament de glutamat, dopamina i noradrenalina a l'EPFm (Jiménez-Sánchez *et al.*, 2015), i també de 5-HT a l'hipocamp (Hamani *et al.*, 2010).

L'aplicació d'ECP a Acb *core* en particular sembla provocar un augment de l'alliberament de monoamines. En concret, s'observa un ràpid increment en els nivells de dopamina i serotonina a l'EPFm, i de dopamina i noradrenalina a l'EOF (Van Dijk *et al.*, 2012). Per tot això, sembla plausible que l'oscil·lació lenta que observem a IL es pugadesure a increments de 5-HT provinents probablement de RD.

És important destacar que els efectes antidepressius de l'ECP puguen ser deguts a increments de 5-HT (Hamani i Temel, 2012; Hamani i Nobrega, 2010). S'ha vist que el seu efecte terapèutic depèn de la modulació que exerceix sobre l'alliberament de neurotransmissors sobre altres regions cerebrals (Vandehey *et al.*, 2009; Tan *et al.*, 2012) i en particular sobre la transmissió monoaminèrgica, específicament la 5-HT (Van Dijk *et al.*, 2012).

Es sap que l'EPFm i concretament IL, mostren una activitat alterada en malalties com la depressió i el TOC, que torna a la normalitat després de l'administració de tractament monoaminèrgic (Graybiel i Rauch, 2000; Deckersbach *et al.*, 2006). El ràpid augment de monoamines a l'EPF amb l'administració d'ECP (Van Dijk *et al.*, 2012), es pot comparar amb l'augment monoaminèrgic secundari a la teràpia antipsicòtica combinada amb l'administració de SSRI en pacients amb TOC i/o depressió (Denys *et al.*, 2004).

5.8 POSSIBLES MECANISMES PELS QUALS L'ECP A ACBCO INCREMENTARA LA POTÈNCIA DE LES SW A A IL

Hi ha diverses teories sobre els possibles mecanismes d'actuació de l'ECP. Una de les més acceptades és aquella que proposa un efecte antidròmic sobre les aferències del nucli estimulat. Aquesta hipòtesi es basa en que front a altes freqüències d'estimulació, els axons són més excitables que els propis somes, de manera que l'ECP podria originar un efecte sobre les connexions del nucli estimulat. L'activació antidròmica és un fenomen ben caracteritzat que es produeix en diverses regions corticals com ara l'escorça motora (Phillips, 1959), l'escorça visual (Feeney i Orem, 1971), l'hipocamp (Matsuda i Fujimura, 1996) i el nucli subtalàmic (Devergnas i Wichmann, 2011).

S'ha demostrat que l'ECP a altes freqüències pot generar, en particular, la disminució de l'activitat neuronal en les connexions eferents. Aquesta supressió es duria a terme a través de l'activació de les interneurons inhibidores i/o provocant la inactivació de processos despolaritzants (Benabid, 1991). Aquest procés ha estat ja proposat com a base de l'augment de la potència d'ona lenta observat a EPF en experiments d'estimulació d'Acb (McCracken i Grace, 2007, 2009; Vassoler *et al.*, 2013). Podria representar també, el mecanisme pel qual observem als nostres experiments major potència d'ona lenta a IL en estimular AcbCo. Les connexions que l'AcbCo mostra amb diverses regions de l'EPF, tant amb escorça orbitofrontal i EPFm, IL (Gabbott

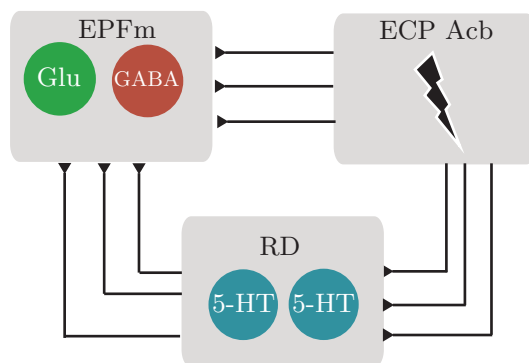


Figura 38: Mecanisme d'acció pel qual l'ECP de l'AcbCo influiria sobre l'activitat oscil·latòria d'IL. D'una banda l'ECP de l'AcbCo podria modificar antidròmicament l'activitat de les neurones GABAèrgiques d'EPFm, traduint-se en un augment de les oscil·lacions lentes. També podria afavorir l'output serotoninèrgic des del RD sobre IL. Ambdós processos podrien donar-se per activació antidròmica.

et al., 2005) justificaria la reducció d'activitat espontània observada per altres autors en diferents regions corticals (figura 38).

Una altra possible explicació que justificaria l'augment de la potència d'ona lenta a IL per ECP a l'AcbCo seria l'augment de 5-HT a aquesta regió cortical. Com ja hem discutit prèviament, l'augment d'SW a EPFm pot ser atribuïble a un major flux serotoninèrgic des de DR (Celada *et al.*, 2001). De fet, s'ha pogut demostrar que l'aplicació d'ECP a l'Acb, té un efecte ràpid sobre l'alliberament monoaminèrgic tant a l'EPFm com a l'EOF específicament de 5-HT (Van Dijk *et al.*, 2012).

Com ja s'ha descrit en la introducció d'aquest treball, els nuclis del rafe mantenen connexions recíproques amb l'Acb. Les projeccions de RD a Acb són les més importants (Van der Kooy i Kuypers, 1979; Kosofsky i Molliver, 1987; Van Bockstaele *et al.*, 1993). A més a més, existeixen projeccions col·laterals de DR sobre l'escorça prefrontal medial i el nucli accumbens (Waselus *et al.*, 2011). Aquestes projeccions permetrien realitzar la co-regulació entre les dues regions, i per a alguns autors suposarien un substrat facilitador de comportaments motivacionals (Waselus *et al.*, 2011). De fet, es relacionen amb la coordinació de respostes d'afrontament adaptatives a factors estressants i amb processos de depressió i patologies d'abús de substàncies (Di Matteo *et al.*, 2008). Totes aquestes connexions, podrien representar el substrat neuroanatòmic mitjançant el qual l'ECP a l'Acb pot promoure per efecte antidròmic, un major flux serotoninèrgic sobre IL (figura 38).

CONCLUSIONS

1. L'activació elèctrica de CeA, amb paràmetres equivalents als que reproduïxen un estrès agut per immobilització, ha demostrat ser un model adequat per a l'estudi dels patrons oscil·latoris a l'escorça infralímbica i la seua interacció amb altres estructures.
2. L'estimulació de CeA genera un canvi en l'activitat d'IL amb l'adquisició d'un nou patró oscil·latori característic.
3. L'activitat lenta predominant d'IL després d'estimular CeA està caracteritzada com *slow wave*. Aquesta oscil·lació, mostra la presència d'activitat ràpida, concretament ones de tipus *spindles*, acoblada a l'ona lenta.
4. Es suggereix que aquest canvi en l'activitat d'IL és dependent del nucli del rafe dorsal. Per tant, l'estimulació de CeA afavoriria un augment del flux 5-HT des de RD a IL i aquest produiria una major SW a IL.
5. El canvi en l'activitat oscil·latòria d'IL no és produït de manera immediata sinó amb un retard de més de 30 minuts. El retard en l'aparició de SW planteja la possibilitat que el canvi es dega a la participació d'estructures intermediàries entre RD i EPFm, com podria ser el RM.
6. L'oscil·lació lenta a IL, podria estar en la base del mecanisme inhibitori d'aquesta àrea front la resposta d'estrès. Aquest procés es produiria per l'arribada de 5-HT per part de RD a IL.
7. Altra possibilitat és que l'oscil·lació lenta a IL amb presència de *spindles*, pugui estar en la base d'un processament d'aprenentatge o consolidació d'informació amb contingut emocional degut a l'exposició d'un estrès agut.
8. L'aplicació d'estimulació cerebral profunda d'alta freqüència a la porció *core* del nucli accumbens genera canvis en el patró oscil·latori d'IL.
9. El canvi en l'activitat d'IL després d'estimular l'AcbCo, mostra un predomini d'ona lenta. Aquest canvi s'inicia pràcticament de manera immediatament, amb un retard menor a l'observat a IL per l'estimulació de CeA.
10. La presència de SW a IL apareix com a conseqüència d'una estimulació curta d'uns 5 min. Aquestes dades contrasten amb els

períodes llargs que normalment s'utilitzen en l'aplicació d'ECP, demostrant que l'aplicació aguda d'ECP també promou canvis evidents.

11. L'activitat SW a IL, producte de l'ECP, presenta característiques diferents a l'analitzada per estimulació de CeA. Aquesta activitat no mostra la presència d'altres bandes de freqüència més ràpides com les *spindles*.
12. La major predominança de SW a IL podria estar implicada en la regulació de l'estrès. Per tant es podria interpretar funcionalment, que l'administració d'ECP a AcbCo facilitaria a IL l'adquisició d'un patró d'activitat elèctrica amb el que seria capaç d'inhibir l'estrès.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Abelson, J., Liberzon, I., Young, E. a. & Khan, S. Cognitive modulation of the endocrine stress response to a pharmacological challenge in normal and panic disorder subjects. *Archives of general psychiatry* **62**, 668–75 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15939844>.
- [2] Abercrombie, E., Keefe, K., DiFrischia, D. & Zigmond, M. Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *Journal of neurochemistry* **52**, 1655–8 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2709017>.
- [3] Adhikari, A., Topiwala, M. & Gordon, J. Synchronized activity between the ventral hippocampus and the medial prefrontal cortex during anxiety. *Neuron* **65** (2010). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627309009799>.
- [4] Adhikari, I. Distributed circuits underlying anxiety. *Frontiers in behavioral neuroscience* **8**, 112 (2014). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3978252&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [5] Aggleton, J. & Young, A. The enigma of the amygdala: on its contribution to human emotion. *Cognitive neuroscience of emotion* (2000). URL <https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=A2s963AzymYC&oi=fnd&pg=PA106&dq=Aggleton+Young+2000+amygdala&ots=m9N0ccbCx5&sig=r34xira2u3bFHKVwZ2KkyX0hSP0>.
- [6] Aghajanian, G. & Marek, G. Serotonin induces excitatory postsynaptic potentials in apical dendrites of neocortical pyramidal cells. *Neuropharmacology* **36**, 589–99 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9225284>.
- [7] Aghajanian, G. & Vandermaelen, C. Intracellular recording in vivo from serotonergic neurons in the rat dorsal raphe nucleus: methodological considerations. *The journal of histochemistry and cytochemistry* **30**, 813–4 (1982). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6749973>.
- [8] Akirav, I., Raizel, H. & Maroun, M. Enhancement of conditioned fear extinction by infusion of the GABA(A) agonist muscimol into the rat prefrontal cortex and amygdala. *The European journal of neuroscience* **23**, 758–64 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16487156>.
- [9] Alheid, G., Beltramino, C., De Olmos, J., Forbes, M., Swanson, D. & Heimer, L. The neuronal organization of the supracapsular part of the stria terminalis in the rat: the dorsal component of the extended amygdala. *Neuroscience* **84**, 967–96 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9578390>.
- [10] Alheid GF, H. L. New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: The striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience* **27**, 1–39 (1988). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452288902175>.

- [11] Alleva, E. & Francia, N. Psychiatric vulnerability: suggestions from animal models and role of neurotrophins. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **33**, 525–36 (2009). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763408001486>.
- [12] Amano, T., Duvarci, S., Popa, D. & Paré, D. The fear circuit revisited: contributions of the basal amygdala nuclei to conditioned fear. *The Journal of neuroscience* **31**, 15481–9 (2011). URL <http://www.jneurosci.org/content/31/43/15481.short>.
- [13] Amargó-Bosch, M., Bortolozzi, A., Puig, M., Serrats, J., Adell, A., Celada, P., Toth, M., Mengod, G. & Artigas, F. Co-expression and in vivo interaction of serotonin_{1A} and serotonin_{2A} receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **14**, 281–99 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14754868>.
- [14] Amat, J., Paul, E., Watkins, L. & Maier, S. Activation of the ventral medial prefrontal cortex during an uncontrollable stressor reproduces both the immediate and long-term protective effects of behavioral control. *Neuroscience* **154**, 1178–1186 (2008).
- [15] Amat, J., Baratta, M., Paul, E., Bland, S., Watkins, L. & Maier, S. Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. *Nature neuroscience* **8**, 365–71 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15696163>.
- [16] Amat, J., Tamblyn, J., Paul, E., Bland, S., Amat, P., Foster, A., Watkins, L. & Maier, S. Microinjection of urocortin 2 into the dorsal raphe nucleus activates serotonergic neurons and increases extracellular serotonin in the basolateral amygdala. *Neuroscience* **129**, 509–19 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15541873>.
- [17] Amat, J., Paul, E., Zarza, C., Watkins, L. R. & Maier, S. F. Previous Experience with Behavioral Control over Stress Blocks the Behavioral and Dorsal Raphe Nucleus Activating Effects of Later Uncontrollable Stress: Role of the Ventral Medial Prefrontal Cortex. *Journal of Neuroscience* **26**, 13264–13272 (2006). URL <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3630-06.2006>.
- [18] Ambroggi, F., Ghazizadeh, A., Nicola, S. & Fields, H. Roles of nucleus accumbens core and shell in incentive-cue responding and behavioral inhibition. *The Journal of neuroscience* **31**, 6820–30 (2011). URL <http://www.jneurosci.org/content/31/18/6820.short>.
- [19] Amorapanth, P., Nader, K. & LeDoux, J. Lesions of periaqueductal gray dissociate-conditioned freezing from conditioned suppression behavior in rats. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* **6**, 491–9 (1999). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=311317&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [20] Andolina, D., Maran, D., Valzania, A., Conversi, D. & Puglisi-Allegra, S. Prefrontal/amygdalar system determines stress coping behavior through 5-HT/GABA connection. *Neuropsychopharmacology* **38**, 2057–67 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23636466>.
- [21] Andrade, T., Zangrossi, H. & Graeff, F. The median raphe nucleus in anxiety revisited. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* **27**, 1107–15 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23999409>.

- [22] Feijó AA, Feijó M, Carpenter L & HP, L. Update on stress and depression: the role of the hypothalamic- pituitary-adrenal (HPA) axis. *Rev Bras Psiquiatr* **25**, 231–238 (2003). [15334406](#).
- [23] Anisman, H. Neurochemical changes elicited by stress. In *Psychopharmacology of aversively motivated behavior*, 119–172 (Springer, 1978).
- [24] Antonijevic, I. HPA axis and sleep: identifying subtypes of major depression. *Stress (Amsterdam, Netherlands)* **11**, 15–27 (2008). URL <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10253890701378967#.VwZ0e8ctXR8>.
- [25] Aouizerate, B., Martin-Guehl, C. E., C, Guehl, A. H., D, Benazzouz, A., Fabrigoule, C., Allard, M., Rougier, A., Burbaud, P., Tignol, J. & Bioulac, B. [Deep brain stimulation of the ventral striatum in the treatment of obsessive-compulsive disorder and major depression]. *Medecine sciences : M/S* **21**, 811–3 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16197896>.
- [26] Araneda, R. & Andrade, R. 5-Hydroxytryptamine₂ and 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors mediate opposing responses on membrane excitability in rat association cortex. *Neuroscience* **40**, 399–412 (1991). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030645229190128B>.
- [27] Arató, M., Banki, C., Bissette, G. & Nemeroff, C. Elevated CSF CRF in suicide victims. *Biological psychiatry* **25**, 355–9 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2536563>.
- [28] Arnsten, A. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nature reviews. Neuroscience* **10**, 410–22 (2009). URL <http://pmc/articles/PMC2907136/?report=abstract>.
- [29] Artieda, J., Alegre, M., Valencia, M., Urrestarazu, E., Nicolás, M., Azcárate, J. & Iriarte, J. Oscilaciones cerebrales : papel fisiopatológico y terapéutico en algunas enfermedades neurológicas y psiquiátricas. *An. Sist. Sanit. Navar* **32**, 45–60 (2009).
- [30] Artieda, J., Alegre, M., Valencia, M., Urrestarazu, E., Pérez-Alcázar, M., Nicolás, M., Azcárate, J. & Iriarte, J. [Brain oscillations: pathophysiological and potentially therapeutic role in some neurological and psychiatric diseases]. *Anales del sistema sanitario de Navarra* **32 Suppl 3**, 45–60 (2009). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20094085>.
- [31] Asede, D., Bosch, D., Luthi, A., Ferraguti, F. & Ehrlich, I. Sensory inputs to intercalated cells provide fear-learning modulated inhibition to the basolateral amygdala. *Neuron* **86**, 541–54 (2015). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25843406>.
- [32] Austenfeld, J. & Stanton, A. Coping through emotional approach: a new look at emotion, coping, and health-related outcomes. *Journal of personality* **72**, 1335–63 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15509285>.
- [33] Austin, M., Janosky, J. & Murphy, H. Increased corticotropin-releasing hormone immunoreactivity in monoamine-containing pontine nuclei of depressed suicide men. *Molecular psychiatry* **8**, 324–32 (2003). URL <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001250>.

- [34] Azmitia, E. & Segal, M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *The Journal of comparative neurology* **179**, 641–67 (1978). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/565370>.
- [35] Bale, T. & Vale, W. Increased depression-like behaviors in corticotropin-releasing factor receptor-2-deficient mice: sexually dichotomous responses. *The Journal of neuroscience* **23**, 5295–301 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12832554>.
- [36] Banaschewski, T. & Brandeis, D. Annotation: What electrical brain activity tells us about brain function that other techniques cannot tell us ? a child psychiatric perspective. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* **48**, 415–435 (2007). URL <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-7610.2006.01681.x>.
- [37] Barnes, N. & Sharp, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* **38**, 1083–1152 (1999).
- [38] Başar, E. & Guntekin, B. A review of brain oscillations in cognitive disorders and the role of neurotransmitters. *Brain research* **1235**, 172–93 (2008). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18640103>.
- [39] Basar, K., Sesia, T., Groenewegen, H., Steinbusch, H. W., Visser-Vandewalle, V. & Temel, Y. Nucleus accumbens and impulsivity. *Progress in neurobiology* **92**, 533–57 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20831892>.
- [40] Baxter, M. & Murray, E. The amygdala and reward. *Nature reviews Neuroscience* **3**, 563–73 (2002). URL <http://dx.doi.org/10.1038/nrn875>.
- [41] Beckstead, R., Domesick, V. & Nauta, W. Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain research* **175**, 191–217 (1979). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/314832>.
- [42] Beekman, M., Flachskamm, C. & Linthorst, A. Effects of exposure to a predator on behaviour and serotonergic neurotransmission in different brain regions of C57bl/6N mice. *The European journal of neuroscience* **21**, 2825–36 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15926930>.
- [43] Benabid, A., Pollak, P., Hoffmann, D., Gervason, C., Hommel, M., Perret, J., de Rougemont, J. & Gao, D. Long-term suppression of tremor by chronic stimulation of the ventral intermediate thalamic nucleus. *The Lancet* **337**, 403–406 (1991). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/014067369191175T>.
- [44] Benabid, A. What the future holds for deep brain stimulation. *Expert review of medical devices* **4**, 895–903 (2007). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18035954>.
- [45] Benchenane, K., Tiesinga, P. & Battaglia, F. Oscillations in the prefrontal cortex: a gateway to memory and attention. *Current Opinion in Neurobiology* **21**, 475–485 (2011). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959438811000080>.

- [46] Benetti, F., Furini, C. R. G., de Carvalho Myskiw, J., Provensi, G., Passani, M. B., Baldi, E., Bucherelli, C., Munari, L., Izquierdo, I. & Blandina, P. Histamine in the basolateral amygdala promotes inhibitory avoidance learning independently of hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **112**, E2536–42 (2015). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4434720&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [47] Bennett, M. The concept of long term potentiation of transmission at synapses. *Progress in neurobiology* **60**, 109–37 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10639051>.
- [48] Berendse, H., Galis-de Graaf, Y. & Groenewegen, H. Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *The Journal of comparative neurology* **316**, 314–47 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1577988>.
- [49] Berretta, S., Pantazopoulos, H., Caldera, M., Pantazopoulos, P. & Paré, D. Infralimbic cortex activation increases c-Fos expression in intercalated neurons of the amygdala. *Neuroscience* **132**, 943–53 (2005). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1927866&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [50] Bethea, C. L., Lima, F. B., Centeno, M. L., Weissheimer, K. V., Senashova, O., Reddy, A. P. & Cameron, J. L. Effects of citalopram on serotonin and CRF systems in the midbrain of primates with differences in stress sensitivity. *Journal of chemical neuroanatomy* **41**, 200–18 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3140797&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [51] Black, P. H. & Garbutt, L. D. Stress, inflammation and cardiovascular disease. *Journal of Psychosomatic Research* **52**, 1–23 (2002). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022399901003026>.
- [52] Bliss, T. & Collingridge, G. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **361**, 31–9 (1993). URL <http://www.nature.com/nature/journal/v361/n6407/pdf/361031a0.pdf>.
- [53] Bogdan, R. & Pizzagalli, D. A. Acute stress reduces reward responsiveness: implications for depression. *Biological psychiatry* **60**, 1147–54 (2006). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322306004719>.
- [54] Bögels, S. M., Alden, L., Beidel, D. C., Clark, L. A., Pine, D. S., Stein, M. B. & Voncken, M. Social anxiety disorder: questions and answers for the DSM-V. *Depression and anxiety* **27**, 168–89 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20143427>.
- [55] Born, J. Slow-wave sleep and the consolidation of long-term memory. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry* **11 Suppl 1**, 16–21 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20509828>.
- [56] Bosker, F., de Winter, T., Klomp makers, A. & Westenberg, H. Flesinoxan dose-dependently reduces extracellular 5-hydroxytryptamine (5-HT) in rat median raphe and dorsal hippocampus through activation of 5-HT_{1A} receptors. *Journal of neurochemistry* **66**, 2546–55 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8632181>.

- [57] Bouton, M. E. Context and Behavioral Processes in Extinction. *Learning & Memory* **11**, 485–494 (2004). URL <http://learnmem.cshlp.org/content/11/5/485.short>.
- [58] Brady, A. & O'Donnell, P. Dopaminergic modulation of prefrontal cortical input to nucleus accumbens neurons in vivo. *The Journal of neuroscience* **24**, 1040–9 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14762122>.
- [59] Brewin, C. R. & Holmes, E. A. Psychological theories of post-traumatic stress disorder. *Clinical Psychology Review* **23**, 339–376 (2003). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272735803000333>.
- [60] Brown, P., Mazzone, P., Oliviero, A., Altibrandi, M., Pilato, F., Tonali, P. a. & Di Lazzaro, V. Effects of stimulation of the subthalamic area on oscillatory pallidal activity in Parkinson's disease. *Experimental neurology* **188**, 480–90 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15246847>.
- [61] Buchanan, S., Thompson, R., Maxwell, B. & Powell, D. Efferent connections of the medial prefrontal cortex in the rabbit. *Experimental Brain Research* **79** (1994). URL <http://link.springer.com/10.1007/BF00229186>.
- [62] Buzsáki, G. Two-stage model of memory trace formation: a role for "noisy" brain states. *Neuroscience* **31**, 551–70 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2687720>.
- [63] Buzsaki, G. *Rhythms of the Brain* (Oxford University Press, 2006). URL <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=ldz58irprjYC&pgis=1>.
- [64] Buzsáki, G. & Draguhn, A. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science (New York, N.Y.)* **304**, 1926–9 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15218136>.
- [65] Buzsáki, G., Logothetis, N. & Singer, W. Scaling brain size, keeping timing: evolutionary preservation of brain rhythms. *Neuron* **80**, 751–64 (2013). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627313009045>.
- [66] Buzsáki, G. & Watson, B. Brain rhythms and neural syntax: Implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience* **14**, 345–367 (2012).
- [67] Cabib, S. & Puglisi-Allegra, S. The mesoaccumbens dopamine in coping with stress. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **36**, 79–89 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21565217>.
- [68] Camp, R. M. & Johnson, J. D. Repeated stressor exposure enhances contextual fear memory in a beta-adrenergic receptor-dependent process and increases impulsivity in a non-beta receptor-dependent fashion. *Physiology & behavior* **150**, 64–68 (2015).
- [69] Cannon, W. B. Organization for physiological homeostasis. *Physiol Rev* **9**, 399–431 (1929). URL <http://physrev.physiology.org/content/9/3/399>.

- [70] Carboni, E. & Silvagni, A. Dopamine reuptake by norepinephrine neurons: exception or rule? *Critical reviews in neurobiology* **16**, 121–8 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15581407>.
- [71] Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J. & Everitt, B. J. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **26**, 321–352 (2002). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763402000076>.
- [72] Caroni, P., Chowdhury, A. & Lahr, M. Synapse rearrangements upon learning: from divergent-sparse connectivity to dedicated sub-circuits. *Trends in neurosciences* **37**, 604–14 (2014). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25257207>.
- [73] Carrasco, G. A. & Van de Kar, L. D. Neuroendocrine pharmacology of stress. *European journal of pharmacology* **463**, 235–72 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12600714>.
- [74] Cassell, M. & Wright, D. Topography of projections from the medial prefrontal cortex to the amygdala in the rat. *Brain Research Bulletin* **17**, 321–333 (1986). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0361923086902376>.
- [75] Cassell, M., Freedman, L. & Shi, C. The Intrinsic Organization of the Central Extended Amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences* **877**, 217–241 (1999). URL <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09270.x>.
- [76] Celada, P., Puig, M., Casanovas, J., Guillazo, G. & Artigas, F. Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: Involvement of serotonin-1A, GABA(A), and glutamate receptors. *The Journal of neuroscience* **21**, 9917–9929 (2001).
- [77] Celada, P., Puig, M. & Artigas, F. Serotonin modulation of cortical neurons and networks. *Frontiers in integrative neuroscience* **7**, 25 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3630391&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [78] Cerqueira, J. J., Almeida, O. F. & Sousa, N. The stressed prefrontal cortex. left? right! *Brain, behavior, and immunity* **22**, 630–638 (2008).
- [79] Cerqueira, J. J., Mailliet, F., Almeida, O. F., Jay, T. M. & Sousa, N. The prefrontal cortex as a key target of the maladaptive response to stress. *The Journal of neuroscience* **27**, 2781–7 (2007). URL <http://www.jneurosci.org/content/27/11/2781.abstract>.
- [80] Chen, X., Xiong, Y., Xu, G. & Liu, X. Deep brain stimulation. *Interventional neurology* **1**, 200–12 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4031775&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [81] Cho, R., Konecky, R. & Carter, C. Impairments in frontal cortical gamma synchrony and cognitive control in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 19878–83 (2006). URL <http://www.pnas.org/content/103/52/19878.abstract>.

- [82] Christiansen, L., Tan, Q., Iachina, M., Bathum, L., Kruse, T. A., McGue, M. & Christensen, K. Candidate gene polymorphisms in the serotonergic pathway: influence on depression symptomatology in an elderly population. *Biological psychiatry* **61**, 223–30 (2007). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16806099>.
- [83] Clark, D. L., Brown, E. C., Ramasubbu, R. & Kiss, Z. H. Intrinsic Local Beta Oscillations in the Subgenual Cingulate Relate to Depressive Symptoms in Treatment-Resistant Depression. *Biological psychiatry* (2016). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322316311131>.
- [84] Cohen, R. A. & Tong, X. Vascular oxidative stress: the common link in hypertensive and diabetic vascular disease. *Journal of cardiovascular pharmacology* **55**, 308–16 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3018745&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [85] Cole, S., Powell, D. J. & Petrovich, G. D. Differential recruitment of distinct amygdalar nuclei across appetitive associative learning. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* **20**, 295–9 (2013). URL <http://learnmem.cshlp.org/content/20/6/295.short>.
- [86] Cooper, M. A. & Huhman, K. L. Corticotropin-releasing factor receptors in the dorsal raphe nucleus modulate social behavior in Syrian hamsters. *Psychopharmacology* **194**, 297–307 (2007). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2714987&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [87] Cornea-Hébert, V., Riad, M., Wu, C., Singh, S. & Descarries, L. Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in the central nervous system of adult rat. *The Journal of comparative neurology* **409**, 187–209 (1999). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10379914>.
- [88] Crane, J., Ebner, K. & Day, T. a. Medial prefrontal cortex suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to a physical stressor, systemic delivery of interleukin-1beta. *The European journal of neuroscience* **17**, 1473–1481 (2003).
- [89] Cullinan, W., Herman, J., Battaglia, D., Akil, H. & Watson, S. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* **64**, 477–505 (1995). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452294003559>.
- [90] Czéh, B., Müller-Keuker, J. I., Rygula, R., Abumaria, N., Hiemke, C., Domenici, E. & Fuchs, E. Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* **32**, 1490–503 (2007). URL <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1301275>.
- [91] Czéh, B., Perez-Cruz, C., Fuchs, E. & Flugge, G. Chronic stress-induced cellular changes in the medial prefrontal cortex and their potential clinical implications: does hemisphere location matter? *Behavioural brain research* **190**, 1–13 (2008). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432808001083>.

- [92] Dahlström, A. & Fuxe, K. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* **20**, 398–9 (1964). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5856530>.
- [93] Dalley, J. W., Cardinal, R. N. & Robbins, T. W. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **28**, 771–784 (2004). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014976340400096X>.
- [94] Damsma, G., Pfaus, J., Wenkstern, D., Phillips, A. & Fibiger, H. Sexual behavior increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of male rats: comparison with novelty and locomotion. *Behavioral neuroscience* **106**, 181–91 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1313243>.
- [95] Davis, M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual review of neuroscience* **15**, 353–75 (1992). URL <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.ne.15.030192.002033>.
- [96] Davis, M. & Whalen, P. The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular psychiatry* (2001). URL http://www.unites.uqam.ca/cnc/psy7123/Davis_2001.pdf.
- [97] Day, H. E., Greenwood, B. N., Hammack, S. E., Watkins, L. R., Fleshner, M., Maier, S. F. & Campeau, S. Differential expression of 5HT-1A, alpha 1b adrenergic, CRF-R1, and CRF-R2 receptor mRNA in serotonergic, gamma-aminobutyric acidergic, and catecholaminergic cells of the rat dorsal raphe nucleus. *The Journal of comparative neurology* **474**, 364–78 (2004). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2430888&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [98] Day, J. J., Wheeler, R. A., Roitman, M. F. & Carelli, R. M. Nucleus accumbens neurons encode Pavlovian approach behaviors: evidence from an autoshaping paradigm. *The European journal of neuroscience* **23**, 1341–51 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16553795>.
- [99] Dayas, C. V., Buller, K. M. & Day, T. a. Neuroendocrine responses to an emotional stressor: Evidence for involvement of the medial but not the central amygdala. *European Journal of Neuroscience* **11**, 2312–2322 (1999).
- [100] Dayas, C., Buller, K., Crane, J., Xu, Y. & Day, T. Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *European Journal of Neuroscience* **14**, 1143–1152 (2001). URL <http://doi.wiley.com/10.1046/j.0953-816x.2001.01733.x>.
- [101] De Bellis, M., Gold, P., Geraciotti, T., Listwak, S. & Kling, M. Association of fluoxetine treatment with reductions in CSF concentrations of corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin in patients with major depression. *The American journal of psychiatry* **150**, 656–7 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8465888>.
- [102] de Kloet, E. Functional profile of the binary brain corticosteroid receptor system: mediating, multitasking, coordinating, integrating. *European journal of pharmacology* **719**, 53–62 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23876452>.

- [103] De Olmos, J. & Ingram, W. The projection field of the stria terminalis in the rat brain. An experimental study. *The Journal of comparative neurology* **146**, 303–34 (1972). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5086675>.
- [104] Deckersbach, T., Dougherty, D. D. & Rauch, S. L. Functional imaging of mood and anxiety disorders. *Journal of neuroimaging : official journal of the American Society of Neuroimaging* **16**, 1–10 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16483270>.
- [105] DeFelipe, J., Arellano, J., Gómez, A., Azmitia, E. & Muñoz, A. Pyramidal cell axons show a local specialization for GABA and 5-HT inputs in monkey and human cerebral cortex. *The Journal of comparative neurology* **433**, 148–55 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11283956>.
- [106] Delaloye, S. & Holtzheimer, P. E. in the Treatment of Depression. *Dialogues in clinical neuroscience* 83–91 (2014).
- [107] Deniau, J.-M., Degos, B., Bosch, C. & Maurice, N. Deep brain stimulation mechanisms: beyond the concept of local functional inhibition. *The European journal of neuroscience* **32**, 1080–91 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21039947>.
- [108] Denys, D., Mantione, M., Figeet, M., van den Munckhof, P., Koerselman, F., Westenberg, H., Bosch, A. & Schuurman, R. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens for treatment-refractory obsessive-compulsive disorder. *Archives of general psychiatry* **67**, 1061–8 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20921122>.
- [109] Denys, D., Zohar, J. & Westenberg, H. G. The role of dopamine in obsessive-compulsive disorder: preclinical and clinical evidence. *The Journal of clinical psychiatry* **65 Suppl 1**, 11–7 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15554783>.
- [110] Deutch, A. & Cameron, D. Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience* **46**, 49–56 (1992). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452292900070>.
- [111] Devergnas, A. & Wichmann, T. Cortical Potentials Evoked by Deep Brain Stimulation in the Subthalamic Area. *Frontiers in Systems Neuroscience* **5**, 30 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3097379&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [112] Di Matteo, V., Di Giovanni, G., Pierucci, M. & Esposito, E. Serotonin control of central dopaminergic function: focus on in vivo microdialysis studies. *Progress in brain research* **172**, 7–44 (2008). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18772026>.
- [113] Dias-Ferreira, E., Sousa, J. C., Melo, I., Morgado, P., Mesquita, A. R., Cerqueira, J. J., Costa, R. M. & Sousa, N. Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. *Science* **325**, 621–625 (2009).
- [114] Dias Ferreira, F., Mossini, S. A. G., Dias Ferreira, F. M., Arro-téia, C. C., da Costa, C. L., Nakamura, C. V. & Machinski, M. The inhibitory effects of *Curcuma longa* L. essential oil

- and curcumin on *Aspergillus flavus* link growth and morphology. *TheScientificWorldJournal* **2013**, 343804 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3866717&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [115] Díaz-Marsá, M., Molina, R., Lozano, M. & Carrasco, J. [Biological basis of posttraumatic stress disorder]. *Actas españolas de psiquiatria* **28**, 379–84 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11262283>.
- [116] Dijk, D.-J. EEG slow waves and sleep spindles: windows on the sleeping brain. *Behavioural Brain Research* **69**, 109–116 (1995). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0166432895000076>.
- [117] Ding, D., Gabbott, P. & Totterdell, S. Differences in the laminar origin of projections from the medial prefrontal cortex to the nucleus accumbens shell and core regions in the rat. *Brain research* **917**, 81–9 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11602231>.
- [118] Diorio, D., Viau, V. & Meaney, M. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *The Journal of neuroscience* **13**, 3839–47 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8396170>.
- [119] Doherty, M. & Gratton, A. High-speed chronoamperometric measurements of mesolimbic and nigrostriatal dopamine release associated with repeated daily stress. *Brain research* **586**, 295–302 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1325860>.
- [120] Dong, H.-W., Petrovich, G. D. & Swanson, L. W. Topography of projections from amygdala to bed nuclei of the stria terminalis. *Brain Research Reviews* **38**, 192–246 (2001). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165017301000790>.
- [121] Dong, H.-W. & Swanson, L. W. Projections from bed nuclei of the stria terminalis, posterior division: implications for cerebral hemisphere regulation of defensive and reproductive behaviors. *The Journal of comparative neurology* **471**, 396–433 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15022261>.
- [122] Dowlatshahi, D., MacQueen, G., Wang, J. & Young, L. Increased temporal cortex CREB concentrations and antidepressant treatment in major depression. *Lancet (London, England)* **352**, 1754–5 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9848357>.
- [123] Drevets, W. C., Price, J. L. & Furey, M. L. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain structure & function* **213**, 93–118 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2522333&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [124] Dudley, T., Dinardo, L. & Glass, J. In vivo assessment of the midbrain raphe nuclear regulation of serotonin release in the hamster suprachiasmatic nucleus. *Journal of neurophysiology* **81**, 1469–77 (1999). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10200183>.
- [125] Duncan, W. C., Sarasso, S., Ferrarelli, F., Selter, J., Riedner, B. A., Hejazi, N. S., Yuan, P., Brutsche, N., Manji, H. K., Tononi, G. & Zarate, C. A. Concomitant BDNF and sleep slow wave changes indicate

- ketamine-induced plasticity in major depressive disorder. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)* **16**, 301–11 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3510337&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [126] Duncan, W. C. & Zarate, C. A. Ketamine, sleep, and depression: current status and new questions. *Current psychiatry reports* **15**, 394 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3827949&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [127] Ehlers, C., Havstad, J. & Kupfer, D. Estimation of the time course of slow-wave sleep over the night in depressed patients: effects of clomipramine and clinical response. *Biological psychiatry* **39**, 171–81 (1996). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322395001395>.
- [128] Elenkov, I. & Chrousos, G. Stress Hormones, Proinflammatory and Antiinflammatory Cytokines, and Autoimmunity. *Annals of the New York Academy of Sciences* **966**, 290–303 (2002). URL <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04229.x>.
- [129] Etiévant, A., Oosterhof, C., Bétry, C., Abrial, E., Novo-Perez, M., Rovera, R., Scarna, H., Devader, C., Mazella, J., Wegener, G., Sánchez, C., Dkhissi-Benyahya, O., Gronfier, C., Coizet, V., Beaulieu, J., Blier, P., Lucas, G. & Haddjeri, N. Astroglial Control of the Antidepressant-Like Effects of Prefrontal Cortex Deep Brain Stimulation. *EBioMedicine* **2**, 896–906 (2015). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352396415300529>.
- [130] Euston, D. R., Gruber, A. J. & McNaughton, B. L. The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron* **76**, 1057–70 (2012). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3562704&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [131] Ewing, S. G. & Grace, A. A. Long-term high frequency deep brain stimulation of the nucleus accumbens drives time-dependent changes in functional connectivity in the rodent limbic system. *Brain stimulation* **6**, 274–85 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3536888&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [132] Feeney, D. & Orem, J. Influence of antidromic callosal volleys on single units in visual cortex. *Experimental neurology* **33**, 310–21 (1971). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5124951>.
- [133] Feenstra, M. G., Botterbiom, M. H. & Uum, J. F. Local Activation of Metabotropic Glutamate Receptors Inhibits the Handling-Induced Increased Release of Dopamine in the Nucleus Accumbens but Not that of Dopamine or Noradrenaline in the Prefrontal Cortex : Comparison with Inhibition of Ionotropic Recepto. *Journal of neurochemistry* **1104–1113** (1998).
- [134] Feldman, S., Newman, M. E. & Weidenfeld, J. Effects of adrenergic and serotonergic agonists in the amygdala on the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Brain Research Bulletin* **52**, 531–536 (2000). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0361923000002926>.

- [135] Fell, J. & Axmacher, N. The role of phase synchronization in memory processes. *Nature reviews. Neuroscience* **12**, 105–18 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21248789>.
- [136] Fenzl, T., Touma, C., Romanowski, C. P., Ruschel, J., Holsboer, F., Landgraf, R., Kimura, M. & Yassouridis, A. Sleep disturbances in highly stress reactive mice: modeling endophenotypes of major depression. *BMC neuroscience* **12**, 29 (2011). URL <http://bmcneurosci.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2202-12-29>.
- [137] F  r  zou, C. B. H. E. L., Isabelle, Rossier, H. E., Jean & Lambolez, B. 5-HT₃ receptors mediate serotonergic fast synaptic excitation of neocortical vasoactive intestinal peptide/cholecystokinin interneurons. *The Journal of neuroscience* **22**, 7389–97 (2002). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12196560>.
- [138] Fisher, P. M., Meltzer, C. C., Price, J. C., Coleman, R. L., Ziolko, S. K., Becker, C., Moses-Kolko, E. L., Berga, S. L. & Hariri, a. R. Medial Prefrontal Cortex 5-HT_{2A}Density Is Correlated with Amygdala Reactivity, Response Habituation, and Functional Coupling. *Cerebral Cortex* **19**, 2499–2507 (2009). URL <http://www.cercor.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/cercor/bhp022>.
- [139] Fisher, P. M., Price, J. C., Meltzer, C. C., Moses-Kolko, E. L., Becker, C., Berga, S. L. & Hariri, A. R. Medial prefrontal cortex serotonin 1A and 2A receptor binding interacts to predict threat-related amygdala reactivity. *Biology of Mood & Anxiety Disorders* **1**, 2 (2011). URL <http://www.biolmoodanxietydisord.com/content/1/1/2>.
- [140] Foa, E. B., Zinbarg, R. & Rothbaum, B. O. Uncontrollability and unpredictability in post-traumatic stress disorder: an animal model. *Psychological bulletin* **112**, 218 (1992).
- [141] Flaherty, A. W., Williams, Z. M., Amirnovin, R., Kasper, E., Rauch, S. L., Cosgrove, G. & Eskandar, E. N. Deep brain stimulation of the anterior internal capsule for the treatment of Tourette syndrome: technical case report. *Neurosurgery* **57**, E403; discussion E403 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16234657>.
- [142] Floresco, S., McLaughlin, R. & Haluk, D. Opposing roles for the nucleus accumbens core and shell in cue-induced reinstatement of food-seeking behavior. *Neuroscience* **154**, 877–84 (2008). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18479836>.
- [143] Floresco, S. B. The Nucleus Accumbens: An Interface Between Cognition, Emotion, and Action. *Annual Review of Psychology* **66**, 25–52 (2015). URL <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-psych-010213-115159>.
- [144] Fogel, S. M. & Smith, C. T. The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **35**, 1154–65 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21167865>.
- [145] Ford, J. M., Krystal, J. H. & Mathalon, D. H. Neural synchrony in schizophrenia: from networks to new treatments. *Schizophrenia bulletin* **33**, 848–52 (2007). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2632315&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- [146] Forster, G., Feng, N., Watt, M., Korzan, W., Mouw, N., Summers, C. & Renner, K. Corticotropin-releasing factor in the dorsal raphe elicits temporally distinct serotonergic responses in the limbic system in relation to fear behavior. *Neuroscience* **141**, 1047–55 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16713119>.
- [147] Fournier, J. C., DeRubeis, R. J., Hollon, S. D., Dimidjian, S., Amsterdam, J. D., Shelton, R. C. & Fawcett, J. Antidepressant drug effects and depression severity: a patient-level meta-analysis. *JAMA* **303**, 47–53 (2010). URL <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=185157>.
- [148] Fuster, J. The prefrontal cortex—an update: time is of the essence. *Neuron* **30**, 319–33 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11394996>.
- [149] Fuster, J. M. Frontal lobe and cognitive development. *Journal of neurocytology* **31**, 373–85 (2002). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12815254>.
- [150] Fuster, J. M. Network memory. *Trends in Neurosciences* **20**, 451–459 (1997). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223697011284>.
- [151] Gabbott, P. L., Warner, T. a., Jays, P. R., Salway, P. & Busby, S. J. Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of Comparative Neurology* **492**, 145–177 (2005). URL <http://doi.wiley.com/10.1002/cne.20738>.
- [152] Gais, S. & Born, J. Declarative memory consolidation: mechanisms acting during human sleep. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* **11**, 679–85 (2004). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=534696&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [153] Gartside, S., Hajó-Korcsok, E., Bagdy, E., Hársing, L., Sharp, T. & Hajó, M. Neurochemical and electrophysiological studies on the functional significance of burst firing in serotonergic neurons. *Neuroscience* **98**, 295–300 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10854760>.
- [154] Ghashghaei, H. & Barbas, H. Pathways for emotion: interactions of prefrontal and anterior temporal pathways in the amygdala of the rhesus monkey. *Neuroscience* **115**, 1261–1279 (2002). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452202004463>.
- [155] Giachero, M., Calfa, G. D. & Molina, V. A. Hippocampal structural plasticity accompanies the resulting contextual fear memory following stress and fear conditioning. *Learning & Memory* **20**, 611–616 (2013).
- [156] Gibbons, R. D., Hur, K., Brown, C., Davis, J. M. & Mann, J. Benefits from antidepressants: synthesis of 6-week patient-level outcomes from double-blind placebo-controlled randomized trials of fluoxetine and venlafaxine. *Archives of general psychiatry* **69**, 572–9 (2012). URL <http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1151020&maxtoshow=&hits=10&resultformat=&fulltext=gibbons&searchid=1&firstindex=0&resourcetype=hwcit>.

- [157] Gilabert-Juan, J., Castillo-Gomez, E., Guirado, R., Moltó, M. D. & Nacher, J. Chronic stress alters inhibitory networks in the medial prefrontal cortex of adult mice. *Brain structure & function* **218**, 1591–605 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23179864>.
- [158] Gillin, J., Duncan, W., Pettigrew, K., Frankel, B. & Snyder, F. Successful separation of depressed, normal, and insomniac subjects by EEG sleep data. *Archives of general psychiatry* **36**, 85–90 (1979). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/216331>.
- [159] Gilpin, N. W. & Roberto, M. Neuropeptide modulation of central amygdala neuroplasticity is a key mediator of alcohol dependence. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **36**, 873–88 (2012). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763411001990>.
- [160] Gionfriddo, M. R., Greenberg, A. J., Wahegaonkar, A. L. & Lee, K. H. Pathways of translation: deep brain stimulation. *Clinical and translational science* **6**, 497–501 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4057890&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [161] Gläscher, J., Adolphs, R., Damasio, H., Bechara, A., Rudrauf, D., Calamia, M., Paul, L. K. & Tranel, D. Lesion mapping of cognitive control and value-based decision making in the prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**, 14681–6 (2012). URL <http://www.pnas.org/content/109/36/14681.short>.
- [162] Goodman, W. K., Foote, K. D., Greenberg, B. D., Ricciuti, N., Bauer, R., Ward, H., Shapira, N. a., Wu, S. S., Hill, C. L., Rasmussen, S. a. & Okun, M. S. Deep Brain Stimulation for Intractable Obsessive Compulsive Disorder: Pilot Study Using a Blinded, Staggered-Onset Design. *Biological Psychiatry* **67**, 535–542 (2010). URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.11.028>.
- [163] Gorwood, P. Neurobiological mechanisms of anhedonia. *Dialogues in clinical neuroscience* 291–299 (2008).
- [164] Graeff, F., Guimarães, F., De Andrade, T. & Deakin, J. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* **54**, 129–41 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8728550>.
- [165] Gray, T. Amygdaloid CRF pathways. Role in autonomic, neuroendocrine, and behavioral responses to stress. *Annals of the New York Academy of Sciences* **697**, 53–60 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8257022>.
- [166] Gray, T. & Magnuson, D. Peptide immunoreactive neurons in the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis project to the midbrain central gray in the rat. *Peptides* **13**, 451–60 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1381826>.
- [167] Graybiel, A. M. & Rauch, S. L. Toward a Neurobiology of Obsessive-Compulsive Disorder. *Neuron* **28**, 343–347 (2000). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627300001136>.

- [168] Greenberg, B., Gabriels, L., Malone, D., Rezaei, A., Friehs, G., Okun, M., Shapira, N., Foote, K., Cosyns, P., Kubu, C., Malloy, P., Salloway, S., Giftakis, J., Rise, M., Machado, A., Baker, K., Stypulkowski, P., Goodman, W., Rasmussen, S. & Nuttin, B. Deep brain stimulation of the ventral internal capsule/ventral striatum for obsessive-compulsive disorder: worldwide experience. *Molecular psychiatry* **15**, 64–79 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3790898&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [169] Greenberg, B. D., Malone, D. A., Friehs, G. M., Rezaei, A. R., Kubu, C. S., Malloy, P. F., Salloway, S. P., Okun, M. S., Goodman, W. K. & Rasmussen, S. A. Three-year outcomes in deep brain stimulation for highly resistant obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology* **31**, 2384–93 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855529>.
- [170] Groenewegen, H., Room, P., Witter, M. & Lohman, A. Cortical afferents of the nucleus accumbens in the cat, studied with anterograde and retrograde transport techniques. *Neuroscience* **7**, 977–96 (1982). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7099426>.
- [171] Groenewegen, H. & Uylings, H. The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in brain research* **126**, 3–28 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11105636>.
- [172] Groenewegen, H., Wright, C. & Uylings, H. The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* **11**, 99–106 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9208373>.
- [173] Grubert, C., Hurlemann, R., Bewernick, B. H., Kayser, S., Hadrysiwicz, B., Axmacher, N., Sturm, V. & Schlaepfer, T. E. Neuropsychological safety of nucleus accumbens deep brain stimulation for major depression: Effects of 12-month stimulation. *World Journal of Biological Psychiatry* **12**, 516–527 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21736514>.
- [174] Hajó, M., Gartside, S. & Sharp, T. Inhibition of median and dorsal raphe neurones following administration of the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* **351**, 624–9 (1995). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7675121>.
- [175] Hajó, M., Richards, C., Székely, A. & Sharp, T. An electrophysiological and neuroanatomical study of the medial prefrontal cortical projection to the midbrain raphe nuclei in the rat. *Neuroscience* **87**, 95–108 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9722144>.
- [176] Hale, M. W., Shekhar, A. & Lowry, C. A. Stress-related serotonergic systems: implications for symptomatology of anxiety and affective disorders. *Cellular and molecular neurobiology* **32**, 695–708 (2012). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3378822&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [177] Hale, M. W. & Lowry, C. a. Functional topography of midbrain and pontine serotonergic systems: Implications for synaptic regulation of serotonergic circuits. *Psychopharmacology* **213**, 243–264 (2011).

- [178] Halliday, G., Baker, K. & Harper, C. Serotonin and alcohol-related brain damage. *Metabolic Brain Disease* **10**, 25–30 (1995). URL <http://link.springer.com/10.1007/BF01991780>.
- [179] Hamani, C., Diwan, M., Macedo, C. E., Brandão, M. L., Shumake, J., Gonzalez-Lima, F., Raymond, R., Lozano, A. M., Fletcher, P. J. & Nobrega, J. N. Antidepressant-like effects of medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. *Biological psychiatry* **67**, 117–24 (2010). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322309010336>.
- [180] Hamani, C. & Nóbrega, J. N. Deep brain stimulation in clinical trials and animal models of depression. *The European journal of neuroscience* **32**, 1109–17 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21039950>.
- [181] Hamani, C. & Temel, Y. Deep brain stimulation for psychiatric disease: contributions and validity of animal models. *Science translational medicine* **4**, 142rv8 (2012). URL <http://stm.sciencemag.org/content/4/142/142rv8.short>.
- [182] Hammack, S. E., Schmid, M. J., LoPresti, M. L., Der-Avakian, A., Pellymounter, M. A., Foster, A. C., Watkins, L. R. & Maier, S. F. Corticotropin Releasing Hormone Type 2 Receptors in the Dorsal Raphe Nucleus Mediate the Behavioral Consequences of Uncontrollable Stress. *J. Neurosci.* **23**, 1019–1025 (2003). URL <http://www.jneurosci.org/content/23/3/1019.short>.
- [183] Harandi, M., Aguera, M., Gamrani, H., Didier, M., Maitre, M., Calas, A. & Belin, M. gamma-Aminobutyric acid and 5-hydroxytryptamine interrelationship in the rat nucleus raphe dorsalis: combination of radioautographic and immunocytochemical techniques at light and electron microscopy levels. *Neuroscience* **21**, 237–51 (1987). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3299140>.
- [184] Hasselmo, M. E. What is the function of hippocampal theta rhythm?—Linking behavioral data to phasic properties of field potential and unit recording data. *Hippocampus* **15**, 936–49 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16158423>.
- [185] Heidbreder, C. A. & Groenewegen, H. J. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **27**, 555–579 (2003). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763403001027>.
- [186] Heimer, L., Zahm, D., Churchill, L., Kalivas, P. & Wohltmann, C. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* **41**, 89–125 (1991). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030645229190202Y>.
- [187] Heinrichs, S. C. & Koob, G. F. Corticotropin-releasing factor in brain: a role in activation, arousal, and affect regulation. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **311**, 427–40 (2004). URL <http://jpet.aspetjournals.org/content/311/2/427.short>.
- [188] Helen S. Mayberg, M.D., Mario Liotti, M.D., Ph.D., Stephen K. Brannan, M.D., Scott McGinnis, B.S., Roderick K. Mahurin, Ph.D., Paul A.

- Jerabek, Ph.D., J. Arturo Silva, M.D., Janet L. Tekell, M.D., Charles C. Martin, Ph.D., Jack L. Lancaster, Ph.D., and Pe, M. Reciprocal Limbic-Cortical Function and Negative Mood : Converging PETFindings in Depression and Normal Sadness. *American Journal Psychiatry* 675–682 (1999).
- [189] Henke, P. Unit-activity in the central amygdalar nucleus of rats in response to immobilization–stress. *Brain research bulletin* **10**, 833–7 (1983). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6616273>.
- [190] Herkenham, M., Edley, S. M. & Stuart, J. Cell clusters in the nucleus accumbens of the rat, and the mosaic relationship of opiate receptors, acetylcholinesterase and subcortical afferent terminations. *Neuroscience* **11**, 561–593 (1984). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452284900459>.
- [191] Herman, J., McKlveen, J., Solomon, M., Carvalho-Netto, E. & Myers, B. Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **45**, 292–298 (2012). URL http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2012000400002&lng=en&nr=iso&tlng=en.
- [192] Herman, J. P. & Cullinan, W. E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences* **20**, 78–84 (1997). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223696100692>.
- [193] Herman, J. P., Ostrander, M. M., Mueller, N. K. & Figueiredo, H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* **29**, 1201–13 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16271821>.
- [194] Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C. & Cullinan, W. E. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology* **24**, 151–180 (2003). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091302203000293>.
- [195] Herry, C., Ferraguti, F., Singewald, N., Letzkus, J. J., Ehrlich, I. & Lüthi, A. Neuronal circuits of fear extinction. *The European journal of neuroscience* **31**, 599–612 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20384807>.
- [196] Hikosaka, O. The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nature reviews. Neuroscience* **11**, 503–13 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3447364&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [197] Ho, S., Gonzalez, R. D., Abelson, J. L. & Liberzon, I. Neurocircuits underlying cognition-emotion interaction in a social decision making context. *NeuroImage* **63**, 843–57 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22813951>.
- [198] Hoffmann, R., Hendrickse, W., Rush, A. & Armitage, R. Slow-wave activity during non-REM sleep in men with schizophrenia and major depressive disorders. *Psychiatry research* **95**, 215–25 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10974360>.

- [199] Holahan, M. R. & White, N. M. Amygdala inactivation blocks expression of conditioned memory modulation and the promotion of avoidance and freezing. *Behavioral neuroscience* **118**, 24–35 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14979780>.
- [200] Holmes, A. Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **32**, 1293–314 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2561331&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [201] Holroyd, C. B., Coles, M. G. & Nieuwenhuis, S. Medial prefrontal cortex and error potentials. *Science (New York, N.Y.)* **296**, 1610–1 author reply 1610–1 (2002). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12041532>.
- [202] Holstege, G., Meiners, L. & Tan, K. Projections of the bed nucleus of the stria terminalis to the mesencephalon, pons, and medulla oblongata in the cat. *Experimental brain research* **58**, 379–91 (1985). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3996501>.
- [203] Hoover, W. B. & Vertes, R. P. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function* **212**, 149–179 (2007).
- [204] Hoyer, D., Clarke, D., Fozard, J., Hartig, P., Martin, G., Mylecharane, E., Saxena, P. & Humphrey, P. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacological reviews* **46**, 157–203 (1994). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7938165>.
- [205] Huber, R., Ghilardi, M., Massimini, M. & Tononi, G. Local sleep and learning. *Nature* **430**, 78–81 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15184907>.
- [206] Hurley-Gius, K. & Neafsey, E. The medial frontal cortex and gastric motility: microstimulation results and their possible significance for the overall pattern of organization of rat frontal and parietal cortex. *Brain research* **365**, 241–8 (1986). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3947992>.
- [207] Hurley, K., Herbert, H., Moga, M. & Saper, C. Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology* **308**, 249–76 (1991). URL http://www.readcube.com/articles/10.1002%2Fjne.903080210?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_EXPIRED.
- [208] Imperato, A., Puglisi-Allegra, S., Casolini, P. & Angelucci, L. Changes in brain dopamine and acetylcholine release during and following stress are independent of the pituitary-adrenocortical axis. *Brain research* **538**, 111–7 (1991). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2018923>.
- [209] Insel, N., Pilkiw, M., Nobrega, J. N., Hutchison, W. D., Takehara-Nishiuchi, K. & Hamani, C. Chronic deep brain stimulation of the rat ventral medial prefrontal cortex disrupts hippocampal-prefrontal coherence. *Experimental neurology* **269**, 1–7 (2015). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25842268>.

- [210] Iwata, J., LeDoux, J., Meeley, M., Arneric, S. & Reis, D. Intrinsic neurons in the amygdaloid field projected to by the medial geniculate body mediate emotional responses conditioned to acoustic stimuli. *Brain research* **383**, 195–214 (1986). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3768689>.
- [211] Izquierdo, I., Da Silva, R. C., e Silva, M. B., Quillfeldt, J. A. & Medina, J. H. Memory expression of habituation and of inhibitory avoidance is blocked by cnqx infused into the entorhinal cortex. *Behavioral and neural biology* **60**, 5–8 (1993).
- [212] Izquierdo, I., Medina, J. H., Jeriisalinsky, D. & Da Cunha, C. Post-training memory processing in amygdala, septum and hippocampus: role of benzodiazepine/gabaa receptors, and their interaction with other neurotransmitter systems. *Reviews in the Neurosciences* **3**, 11–24 (1992).
- [213] Jacobs, B. & Azmitia, E. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological reviews* **72**, 165–229 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1731370>.
- [214] Jacobs, B., Foote, S. & Bloom, F. Differential projections of neurons within the dorsal raphe nucleus of the rat: a horseradish peroxidase (HRP) study. *Brain research* **147**, 149–53 (1978). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/77700>.
- [215] Jacobs, B. L. & Azmitia, E. C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* **72**, 165–229 (1992). URL <http://physrev.physiology.org/content/72/1/165.short>.
- [216] Jakab, R. & Goldman-Rakic, P. Segregation of serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT₃ receptors in inhibitory circuits of the primate cerebral cortex. *The Journal of comparative neurology* **417**, 337–48 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10683608>.
- [217] Janak, P. H. & Tye, K. M. From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature* **517**, 284–292 (2015). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4565157&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [218] Jankord, R. & Herman, J. P. Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1148**, 64–73 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2637449&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [219] Jankowski, M. P. & Sesack, S. R. Prefrontal cortical projections to the rat dorsal raphe nucleus: ultrastructural features and associations with serotonin and gamma-aminobutyric acid neurons. *The Journal of comparative neurology* **468**, 518–29 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14689484>.
- [220] Jansson, A., Tinner, B., Bancila, M., Vergé, D., Steinbusch, H., Agnati, L. & Fuxe, K. Relationships of 5-hydroxytryptamine immunoreactive terminal-like varicosities to 5-hydroxytryptamine-2A receptor-immunoreactive neuronal processes in the rat forebrain. *Journal of chemical neuroanatomy* **22**, 185–203 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11522440>.

- [221] Jasnow, A. & Huhman, K. Activation of GABA(A) receptors in the amygdala blocks the acquisition and expression of conditioned defeat in Syrian hamsters. *Brain research* **920**, 142–50 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11716820>.
- [222] Jeong, Y. H., Park, C. H., Yoo, J., Shin, K. Y., Ahn, S.-M., Kim, H.-S., Lee, S. H., Emson, P. C. & Suh, Y.-H. Chronic stress accelerates learning and memory impairments and increases amyloid deposition in APPV717I-CT100 transgenic mice, an Alzheimer's disease model. *FASEB journal* **20**, 729–31 (2006). URL <http://www.fasebj.org/content/20/6/729.short>.
- [223] Jiménez-Sánchez, L., Castañé, A., Pérez-Caballero, L., Grifoll-Escoda, M., López-Gil, X., Campa, L., Galofré, M., Berrocoso, E. & Adell, A. Activation of AMPAReceptors Mediates the Antidepressant Action of Deep Brain Stimulation of the Infralimbic Prefrontal Cortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **26**, 2778–89 (2016). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26088969>.
- [224] Jinks, A. L. & McGregor, I. S. Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain Research* **772**, 181–190 (1997). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000689939700810X>.
- [225] Joëls, M., Sarabdjitsingh, R. & Karst, H. Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes. *Pharmacological reviews* **64**, 901–38 (2012). URL <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/64/4/901.short>.
- [226] Jongen-Rêlo, A., Voorn, P. & Groenewegen, H. Immunohistochemical characterization of the shell and core territories of the nucleus accumbens in the rat. *The European journal of neuroscience* **6**, 1255–64 (1994). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7526940>.
- [227] Jovanovic, T. & Ressler, K. J. How the neurocircuitry and genetics of fear inhibition may inform our understanding of PTSD. *The American journal of psychiatry* **167**, 648–62 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3603297&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [228] Kalin, N., Takahashi, L. & Chen, F. Restraint stress increases corticotropin-releasing hormone mRNA content in the amygdala and paraventricular nucleus. *Brain research* **656**, 182–6 (1994). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7804835>.
- [229] Kamarajan, C. & Porjesz, B. Advances in Electrophysiological Research. *Alcohol research : current reviews* **37**, 53–87 (2015). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4476604&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [230] Kapp, B., Frysinger, R., Gallagher, M. & Haselton, J. Amygdala central nucleus lesions: effect on heart rate conditioning in the rabbit. *Physiology & behavior* **23**, 1109–17 (1979). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/542522>.
- [231] Kempton, M. J., Salvador, Z., Munafò, M. R., Geddes, J. R., Simmons, A., Frangou, S. & Williams, S. C. Structural neuroimaging studies

- in major depressive disorder. Meta-analysis and comparison with bipolar disorder. *Archives of general psychiatry* **68**, 675–90 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21727252>.
- [232] Khaindrava, V., Salin, P., Melon, C., Ugrumov, M., Kerkerian-Le-Goff, L. & Daszuta, A. High frequency stimulation of the subthalamic nucleus impacts adult neurogenesis in a rat model of Parkinson's disease. *Neurobiology of disease* **42**, 284–91 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296669>.
- [233] Kim, J., Rison, R. & Fanselow, M. Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. *Behavioral neuroscience* **107**, 1093–8 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8136063>.
- [234] Kirby, L., Zeeb, F. & Winstanley, C. Contributions of serotonin in addiction vulnerability. *Neuropharmacology* **61**, 421–432 (2011).
- [235] Kirby, L., Rice, K. & Valentino, R. Effects of corticotropin-releasing factor on neuronal activity in the serotonergic dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology* **22**, 148–62 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10649828>.
- [236] Kishimoto, T., Radulovic, J., Radulovic, M., Lin, C., Schrick, C., Hooshmand, F., Hermanson, O., Rosenfeld, M. & Spiess, J. Deletion of *crhr2* reveals an anxiolytic role for corticotropin-releasing hormone receptor-2. *Nature genetics* **24**, 415–9 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10742109>.
- [237] Knight, E. J., Min, H.-K., Hwang, S.-C., Marsh, M. P., Paek, S., Kim, I., Felmler, J. P., Abulseoud, O. a., Bennet, K. E., Frye, M. a. & Lee, K. H. Nucleus accumbens deep brain stimulation results in insula and prefrontal activation: a large animal fMRI study. *PLoS one* **8**, e56640 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3575484&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [238] Knyazev, G. G. Motivation, emotion, and their inhibitory control mirrored in brain oscillations. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **31**, 377–95 (2007). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17145079>.
- [239] Koek, R. J., Langevin, J.-P., Krahl, S. E., Kosoyan, H. J., Schwartz, H. N., Chen, J. W., Melrose, R., Mandelkern, M. J. & Sultzer, D. Deep brain stimulation of the basolateral amygdala for treatment-refractory combat post-traumatic stress disorder (PTSD): study protocol for a pilot randomized controlled trial with blinded, staggered onset of stimulation. *Trials* **15**, 356 (2014). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4168122&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [240] Kolassa, I.-T., Wienbruch, C., Neuner, F., Schauer, M., Ruf, M., Odenwald, M. & Elbert, T. Altered oscillatory brain dynamics after repeated traumatic stress. *BMC psychiatry* **7**, 56 (2007). URL <http://bmcp psychiatry.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-244X-7-56>.
- [241] Koob, G. F. Negative reinforcement in drug addiction: the darkness within. *Current opinion in neurobiology* **23**, 559–63 (2013). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959438813000901>.

- [242] Koob, G. F., Buck, C. L., Cohen, A., Edwards, S., Park, P. E., Schlosburg, J. E., Schmeichel, B., Vendruscolo, L. F., Wade, C. L., Whitfield, T. W. & George, O. Addiction as a stress surfeit disorder. *Neuropharmacology* **76 Pt B**, 370–82 (2014). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390813002384>.
- [243] Koolhaas, J., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S., Flügge, G., Korte, S., Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M. & Fuchs, E. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **35**, 1291–301 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21316391>.
- [244] Kosofsky, B. & Molliver, M. The serotonergic innervation of cerebral cortex: different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. *Synapse (New York, N.Y.)* **1**, 153–68 (1987). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2463687>.
- [245] Kreek, M. J., Nielsen, D. A., Butelman, E. R. & LaForge, K. Genetic influences on impulsivity, risk taking, stress responsivity and vulnerability to drug abuse and addiction. *Nature neuroscience* **8**, 1450–7 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16251987>.
- [246] Kreiss, D. & Lucki, I. Differential regulation of serotonin (5-HT) release in the striatum and hippocampus by 5-HT_{1A} autoreceptors of the dorsal and median raphe nuclei. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **269**, 1268–79 (1994). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8014870>.
- [247] Kuhn a, J., Lenartz, D., Mai, J. K., Huff, W., Lee, S.-H., Koulousakis, A., Klosterkoetter, J. & Sturm, V. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens and the internal capsule in therapeutically refractory Tourette-syndrome. *Journal of neurology* **254**, 963–5 (2007). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17410328>.
- [248] Kuhn b, J., Lenartz, D., Huff, W., Lee, S., Koulousakis, A., Klosterkoetter, J. & Sturm, V. Remission of alcohol dependency following deep brain stimulation of the nucleus accumbens: valuable therapeutic implications? *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* **78**, 1152–3 (2007). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2117573&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [249] Kuhn, J., Bührle, C. P., Lenartz, D. & Sturm, V. Deep brain stimulation in addiction due to psychoactive substance use. *Handbook of clinical neurology* **116**, 259–69 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24112900>.
- [250] Kuhn, J., Gründler, T. O., Bauer, R., Huff, W., Fischer, A. G., Lenartz, D., Maarouf, M., Bührle, C., Klosterkötter, J., Ullsperger, M. & Sturm, V. Successful deep brain stimulation of the nucleus accumbens in severe alcohol dependence is associated with changed performance monitoring. *Addiction biology* **16**, 620–3 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21762290>.
- [251] Kupriyanov, R. & Zhdanov, R. The Eustress Concept : Problems and Outlooks. *Word Journal of Medical Sciences* **11**, 179–185 (2014).

- [252] Lafortune, M., Gagnon, J.-F., Martin, N., Latreille, V., Dubé, J., Bouchard, M., Bastien, C. & Carrier, J. Sleep spindles and rapid eye movement sleep as predictors of next morning cognitive performance in healthy middle-aged and older participants. *Journal of sleep research* **23**, 159–67 (2014). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24245769>.
- [253] Lambe, E., Krimer, L. & Goldman-Rakic, P. Differential postnatal development of catecholamine and serotonin inputs to identified neurons in prefrontal cortex of rhesus monkey. *The Journal of neuroscience* **20**, 8780–7 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11102486>.
- [254] Landolt, H.-P. Genetic determination of sleep EEG profiles in healthy humans. *Progress in brain research* **193**, 51–61 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21854955>.
- [255] Lanuza, E., Martínez-Marcos A & Martínez-García F. What is the amygdala? A comparative approach. *Trends in neurosciences* **22**, 207 (1999). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10323756>.
- [256] LeDoux, J. Emotion circuits in the brain. *Annual review of neuroscience* **23**, 155–84 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10845062>.
- [257] LeDoux, J., Iwata, J., Cicchetti, P. & Reis, D. Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *The Journal of neuroscience* **8**, 2517–2529 (1988).
- [258] LeDoux, J. E. Emotional memory systems in the brain. *Behavioural Brain Research* **58**, 69–79 (1993). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0166432893900914>.
- [259] Lee, S., Hjerling-Leffler, J., Zaghera, E., Fishell, G. & Rudy, B. The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. *The Journal of neuroscience* **30**, 16796–808 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3025500&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [260] Lemos, J. C., Zhang, G., Walsh, T., Kirby, L. G., Akanwa, A., Brooks-Kayal, A. & Beck, S. G. Stress-hyperresponsive WKY rats demonstrate depressed dorsal raphe neuronal excitability and dysregulated CRF-mediated responses. *Neuropsychopharmacology* **36**, 721–34 (2011). URL <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2010.200>.
- [261] Lenze, E., Mulsant, B., Shear, M., Schulberg, H., Dew, M., Begley, A., Pollock, B. & Reynolds, C. Comorbid anxiety disorders in depressed elderly patients. *The American journal of psychiatry* **157**, 722–8 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10784464>.
- [262] Lesting, J., Daldrup, T., Narayanan, V., Himpe, C., Seidenbecher, T. & Pape, H.-C. Directional theta coherence in prefrontal cortical to amygdalo-hippocampal pathways signals fear extinction. *PLoS one* **8**, e77707 (2013). URL <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0077707>.
- [263] Lesting, J., Narayanan, R. T., Kluge, C., Sangha, S., Seidenbecher, T. & Pape, H.-C. Patterns of coupled theta activity in amygdala-hippocampal-prefrontal cortical circuits

- during fear extinction. *PloS one* **6**, e21714 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3125298&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [264] Levy, R., Deer, T. R. & Henderson, J. Intracranial neurostimulation for pain control: a review. *Pain physician* **13**, 157–165 (2010).
- [265] Li, H. & Sawchenko, P. Hypothalamic effector neurons and extended circuitries activated in "neurogenic" stress: a comparison of footshock effects exerted acutely, chronically, and in animals with controlled glucocorticoid levels. *The Journal of comparative neurology* **393**, 244–66 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9548700>.
- [266] Likhtik, E. & Paz, R. Amygdala–prefrontal interactions in (mal)adaptive learning. *Trends in Neurosciences* **38**, 158–166 (2015). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223614002355>.
- [267] Likhtik, E., Stujenske, J. M., Topiwala, M. A., Harris, A. Z. & Gordon, J. A. Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nature neuroscience* **17**, 106–13 (2014). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4035371&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [268] Lipsman, N., Kaping, D., Westendorff, S., Sankar, T., Lozano, A. M. & Womelsdorf, T. Beta coherence within human ventromedial prefrontal cortex precedes affective value choices. *NeuroImage* **85 Pt 2**, 769–78 (2014). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811913006071>.
- [269] Logue, S. F. & Gould, T. J. The neural and genetic basis of executive function: attention, cognitive flexibility, and response inhibition. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* **123**, 45–54 (2014). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305713001974>.
- [270] Lozano, A. M. & Lipsman, N. Probing and Regulating Dysfunctional Circuits Using Deep Brain Stimulation. *Neuron* **77**, 406–424 (2013). URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2013.01.020>.
- [271] Lucassen, P. J., Pruessner, J., Sousa, N., Almeida, O. F., Van Dam, A. M., Rajkowska, G., Swaab, D. F. & Czeh, B. Neuropathology of stress. *Acta Neuropathologica* **127**, 109–135 (2014).
- [272] Lucki, I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biological psychiatry* **44**, 151–62 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9693387>.
- [273] Lujan, J., Chaturvedi, A. & McIntyre, C. C. Tracking the mechanisms of deep brain stimulation for neuropsychiatric disorders. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* **13**, 5892–904 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2859453&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [274] Lukkes, J. L., Forster, G. L., Renner, K. J. & Summers, C. H. Corticotropin-releasing factor 1 and 2 receptors in the dorsal raphe differentially affect serotonin release in the nucleus accumbens. *European journal of pharmacology* **578**, 185–93 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2276644&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- [275] Lüthi, A. Sleep Spindles: Where They Come From, What They Do. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* **20**, 243–256 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23981852>.
- [276] M.D., T. G. G. P. & Edwards, L. Chronic Stress and the HPA Axis. *The Standard* **9**, 1–12 (2010).
- [277] Macht, M., Schwarz, R. & Ellgring, H. Patterns of psychological problems in Parkinson's disease. *Acta neurologica Scandinavica* **111**, 95–101 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15644068>.
- [278] Maggi, C. A. & Meli, A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems Part 1: General considerations. *Experientia* **42**, 109–114 (1986). URL <http://link.springer.com/10.1007/BF01952426>.
- [279] Mahon, S. Relationship between EEG Potentials and Intracellular Activity of Striatal and Cortico-striatal Neurons: an In Vivo Study under Different Anesthetics. *Cerebral Cortex* **11**, 360–373 (2001). URL <http://cercor.oxfordjournals.org/content/11/4/360.full>.
- [280] Maier, S. F. & Watkins, L. R. Role of the medial prefrontal cortex in coping and resilience. *Brain research* **1355**, 52–60 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2967290&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [281] Maier, S. F. & Watkins, L. R. Stressor controllability and learned helplessness: the roles of the dorsal raphe nucleus, serotonin, and corticotropin-releasing factor. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **29**, 829–41 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15893820>.
- [282] Maldonado-Irizarry, C., Swanson, C. & Kelley, A. Glutamate receptors in the nucleus accumbens shell control feeding behavior via the lateral hypothalamus. *The Journal of neuroscience* **15**, 6779–88 (1995). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7472436>.
- [283] Mańko, M., Geracitano, R. & Capogna, M. Functional connectivity of the main intercalated nucleus of the mouse amygdala. *The Journal of physiology* **589**, 1911–25 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3090594&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [284] Maren, S. Synaptic transmission and plasticity in the amygdala. An emerging physiology of fear conditioning circuits. *Molecular neurobiology* **13**, 1–22 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8892333>.
- [285] Maren, S. & Quirk, G. J. Neuronal signalling of fear memory. *Nature reviews. Neuroscience* **5**, 844–52 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15496862>.
- [286] Marowsky, A., Yanagawa, Y., Obata, K. & Vogt, K. E. A specialized subclass of interneurons mediates dopaminergic facilitation of amygdala function. *Neuron* **48**, 1025–37 (2005). URL <http://www.cell.com/article/S0896627305009402/fulltext>.

- [287] Marshall, L., Mölle, M. & Born, J. Spindle and slow wave rhythms at slow wave sleep transitions are linked to strong shifts in the cortical direct current potential. *Neuroscience* **121**, 1047–1053 (2003). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452203004585>.
- [288] Marshall, L., Helgadóttir, H., Mölle, M. & Born, J. Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* **444**, 610–613 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17086200>.
- [289] Martínez-García, F., Novejarque, A. & Lanuza, E. Two interconnected functional systems in the amygdala of amniote vertebrates. *Brain research bulletin* **75**, 206–13 (2008). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0361923007003620>.
- [290] Martínez-García, F., Novejarque, A., Gutiérrez-Castellanos, N. & Lanuza, E. Piriform cortex and amygdala. In *The Mouse Nervous System*, eds C. Watson, G. Paxinos, and L. Puelles (San Diego, CA: Academic Press), 140–172 (2012).
- [291] Mascetti, L., Muto, V., Matarazzo, L., Foret, A., Ziegler, E., Albouy, G., Sterpenich, V., Schmidt, C., Degueldre, C., Leclercq, Y., Phillips, C., Luxen, A., Vandewalle, G., Vogels, R., Maquet, P. & Balteau, E. The impact of visual perceptual learning on sleep and local slow-wave initiation. *The Journal of neuroscience* **33**, 3323–31 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23426660>.
- [292] Matheson, K. & Anisman, H. Systems of coping associated with dysphoria, anxiety and depressive illness: a multivariate profile perspective. *Stress (Amsterdam, Netherlands)* **6**, 223–34 (2003). URL <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10253890310001594487>.
- [293] Matsuda, Y. & Fujimura, K. Recurrent inhibition in amygdalo-cortical projection neurons of the rat via collaterals of fast-conducting axons. *Neuroscience research* **25**, 385–9 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8866519>.
- [294] Maurice, N., Thierry, A.-M., Glowinski, J. & Deniau, J.-M. Spontaneous and Evoked Activity of Substantia Nigra Pars Reticulata Neurons during High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus. *J. Neurosci.* **23**, 9929–9936 (2003). URL <http://www.jneurosci.org/content/23/30/9929.full>.
- [295] Mayberg, H. S., Lozano, A. M., Voon, V., McNeely, H. E., Seminowicz, D., Hamani, C., Schwalb, J. M. & Kennedy, S. H. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron* **45**, 651–60 (2005). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089662730500156X>.
- [296] McCracken, C. & Grace, A. Nucleus accumbens deep brain stimulation produces region-specific alterations in local field potential oscillations and evoked responses in vivo. *The Journal of Neuroscience* **29**, 5354–5363 (2009). URL <http://www.jneurosci.org/content/29/16/5354.short>.
- [297] McCracken, C. B. & Grace, A. a. High-frequency deep brain stimulation of the nucleus accumbens region suppresses neuronal activity and selectively modulates afferent drive in rat orbitofrontal cortex in vivo. *The Journal of neuroscience* **27**, 12601–10 (2007). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18003839>.

- [298] McDonald, A. Projection neurons of the basolateral amygdala: a correlative Golgi and retrograde tract tracing study. *Brain research bulletin* **28**, 179–85 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1375860>.
- [299] McDonald, A. Cytoarchitecture of the central amygdaloid nucleus of the rat. *The Journal of comparative neurology* **208**, 401–18 (1982). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7119168>.
- [300] McDonald, A. & Augustine, J. Localization of GABA-like immunoreactivity in the monkey amygdala. *Neuroscience* **52**, 281–94 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8450947>.
- [301] McDonald, A., Mascagni, F. & Guo, L. Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience* **71**, 55–75 (1996). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452295004173>.
- [302] McDonald, A. J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology* **55**, 257–332 (1998). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008298000033>.
- [303] McEwen, B. S. In pursuit of resilience: stress, epigenetics, and brain plasticity. *Annals of the New York Academy of Sciences* (2016). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26919273>.
- [304] McEwen, B. S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance¹¹Published on the World Wide Web on 22 November 2000. *Brain Research* **886**, 172–189 (2000). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899300029504>.
- [305] McEwen, B. S. Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences* **840**, 33–44 (1998).
- [306] McGeorge, A. & Faull, R. The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* **29**, 503–37 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2472578>.
- [307] McIntyre, C. C. & Hahn, P. J. Network Perspectives on the Mechanisms of Deep Brain Stimulation. *Neurobiology of disease* **38**, 329–337 (2011).
- [308] McKlveen, J. M., Myers, B., Flak, J. N., Bundzikova, J., Solomon, M. B., Seroogy, K. B. & Herman, J. P. Role of prefrontal cortex glucocorticoid receptors in stress and emotion. *Biological psychiatry* **74**, 672–9 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23683655>.
- [309] McQuade, R. & Sharp, T. Release of cerebral 5-hydroxytryptamine evoked by electrical stimulation of the dorsal and median raphe nuclei: effect of a neurotoxic amphetamine. *Neuroscience* **68**, 1079–88 (1995). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8544983>.
- [310] Medina, L., Bupesh, M. & Abellán, A. Contribution of genoarchitecture to understanding forebrain evolution and development, with particular emphasis on the amygdala. *Brain, behavior and evolution* **78**, 216–36 (2011). URL <http://www.karger.com/Article/FullText/330056>.
- [311] Mednick, S. C., McDevitt, E. A., Walsh, J. K., Wamsley, E., Paulus, M., Kanady, J. C. & Drummond, S. P. The critical role of sleep spindles in hippocampal-dependent memory: a

- pharmacology study. *The Journal of neuroscience* **33**, 4494–504 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3744388&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [312] Mehta, D. & Binder, E. B. Gene environment vulnerability factors for PTSD: The HPA axis. *Neuropharmacology* **62**, 654–662 (2012). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390811001183>.
- [313] de Mello, A. d. A. F., de Mello, M. F., Carpenter, L. L. & Price, L. H. Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil : 1999)* **25**, 231–8 (2003). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4479183&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [314] Meloni, E. G., Reedy, C. L., Cohen, B. M. & Carlezon, W. A. Activation of raphe efferents to the medial prefrontal cortex by corticotropin-releasing factor: correlation with anxiety-like behavior. *Biological psychiatry* **63**, 832–9 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2362385&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [315] Meredith, G. E. The Synaptic Framework for Chemical Signaling in Nucleus Accumbens. *Annals of the New York Academy of Sciences* **877**, 140–156 (1999). URL <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09266.x>.
- [316] Merkl, A., Neumann, W.-J., Huebl, J., Aust, S., Horn, A., Krauss, J. K., Dziobek, I., Kuhn, J., Schneider, G.-H., Bajbouj, M. & Kühn, A. A. Modulation of Beta-Band Activity in the Subgenual Anterior Cingulate Cortex during Emotional Empathy in Treatment-Resistant Depression. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* (2015). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25994959>.
- [317] Milad MR, Q. G. Fear extinction as a model for translational neuroscience: ten years of progress. *Annu Rev Psychol* **63** 129–151 (2012).
- [318] Miller, S. M. Controllability and human stress: Method, evidence and theory. *Behaviour Research and Therapy* **17**, 287–304 (1979).
- [319] Miller, E. K. & Cohen, J. D. An integrative theory of prefrontal cortex. *Annual review of neuroscience* 167–202 (2001).
- [320] Miner, L., Backstrom, J., Sanders-Bush, E. & Sesack, S. Ultrastructural localization of serotonin_{2A} receptors in the middle layers of the rat prelimbic prefrontal cortex. *Neuroscience* **116**, 107–17 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12535944>.
- [321] Miocinovic, S., Parent, M., Butson, C. R., Hahn, P. J., Russo, G. S., Vitek, J. L. & McIntyre, C. C. Computational analysis of subthalamic nucleus and lenticular fasciculus activation during therapeutic deep brain stimulation. *Journal of neurophysiology* **96**, 1569–80 (2006). URL <http://jn.physiology.org/content/96/3/1569.short>.
- [322] Mo, B., Feng, N., Renner, K. & Forster, G. Restraint stress increases serotonin release in the central nucleus of the amygdala via activation of corticotropin-releasing factor receptors. *Brain Research Bulletin* **76**, 493–498 (2008).

- [323] Mogenson, G., Jones, D. & Yim, C. From motivation to action: Functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology* **14**, 69–97 (1980). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0301008280900180>.
- [324] Mölle, M., Bergmann, T. O., Marshall, L. & Born, J. Fast and slow spindles during the sleep slow oscillation: disparate coalescence and engagement in memory processing. *Sleep* **34**, 1411–21 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3174843&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [325] Molliver, M. Serotonergic neuronal systems: what their anatomic organization tells us about function. *Journal of clinical psychopharmacology* **7**, 3S–23S (1987). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3323265>.
- [326] Monti, J. M. & Jantos, H. The role of serotonin 5-HT₇ receptor in regulating sleep and wakefulness. *Reviews in the neurosciences* **25**, 429–37 (2014). URL <http://www.degruyter.com/view/j/revneuro.2014.25.issue-3/revneuro-2014-0016/revneuro-2014-0016.xml>.
- [327] Morales, M. & Bloom, F. The 5-HT₃ receptor is present in different subpopulations of GABAergic neurons in the rat telencephalon. *The Journal of neuroscience* **17**, 3157–67 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9096150>.
- [328] Moruzzi, G. & Magoun, H. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. 1949. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences* **7**, 251–67 (1995). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7626974>.
- [329] Mosko, S., Haubrich, D. & Jacobs, B. Serotonergic afferents to the dorsal raphe nucleus: evidence from HRP and synaptosomal uptake studies. *Brain research* **119**, 269–90 (1977). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/830388>.
- [330] Mukovski, M., Chauvette, S., Timofeev, I. & Volgushev, M. Detection of active and silent states in neocortical neurons from the field potential signal during slow-wave sleep. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **17**, 400–14 (2007). URL <http://cercor.oxfordjournals.org/content/17/2/400.short>.
- [331] Muller, J., Corodimas, K., Fridel, Z. & LeDoux, J. Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behavioral neuroscience* **111**, 683–91 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9267646>.
- [332] Murphy, D. L., Moya, P. R., Fox, M. A., Rubenstein, L. M., Wendland, J. R. & Timpano, K. R. Anxiety and affective disorder comorbidity related to serotonin and other neurotransmitter systems: obsessive-compulsive disorder as an example of overlapping clinical and genetic heterogeneity. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* **368**, 20120435 (2013). URL <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/368/1615/20120435.short>.
- [333] Murray, C. & Lopez, A. Evidence-based health policy—lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science (New York, N.Y.)* **274**, 740–3 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8966556>.

- [334] Myers, K. & Davis, M. Mechanisms of fear extinction. *Molecular psychiatry* **12**, 120–50 (2007). URL <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001939>.
- [335] Naesström, M., Blomstedt, P. & Bodlund, O. A systematic review of psychiatric indications for deep brain stimulation, with focus on major depressive and obsessive-compulsive disorder. *Nordic Journal of Psychiatry* 1–9 (2016). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27103550>.
- [336] Nakao, T., Matsumoto, T., Shimizu, D., Morita, M., Yoshimura, S., Northoff, G., Morinobu, S., Okamoto, Y. & Yamawaki, S. Resting state low-frequency fluctuations in prefrontal cortex reflect degrees of harm avoidance and novelty seeking: an exploratory NIRS study. *Frontiers in systems neuroscience* **7**, 115 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3865766&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [337] Nauta, W., Smith, G., Faull, R. & Domesick, V. B. Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience* **3**, 385–401 (1978). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452278900416>.
- [338] Nes, L. S. & Segerstrom, S. C. Conceptualizing coping: Optimism as a case study. *Social and Personality Psychology Compass* **2**, 2125–2140 (2008).
- [339] Newman, R. & Winans, S. An experimental study of the ventral striatum of the golden hamster. I. Neuronal connections of the nucleus accumbens. *The Journal of comparative neurology* **191**, 167–92 (1980). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7410590>.
- [340] Nitecka, L. & Ben-Ari, Y. Distribution of GABA-like immunoreactivity in the rat amygdaloid complex. *The Journal of comparative neurology* **266**, 45–55 (1987). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3429715>.
- [341] Nolen-Hoeksema, S. Ruminative coping with depression. In *Motivation and self-regulation across the life span.*, pp. 237–256 (1998).
- [342] Nolen-Hoeksema, S. Ruminative coping with depression. (1998).
- [343] Nowak, L. G. & Bullier, J. Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. *Experimental Brain Research* **118**, 477–488 (1998). URL <http://link.springer.com/10.1007/s002210050304>.
- [344] Nuttin, B., Gybels, J., Cosyns, P., Gabriels, L., Meyerson, B., Andrewitch, S., Rasmussen, S. A., Greenberg, B., Friehs, G., Rezai, A. R., Montgomery, E., Malone, D. & Fins, J. J. Deep brain stimulation for psychiatric disorders. *Neurosurgery clinics of North America* **14**, xv–xvi (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12856486>.
- [345] Ongur, D. & Price, J. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **10**, 206–219 (2000).
- [346] Ongur, D., Ferry, A. T. & Price, J. L. Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *The Journal of comparative neurology* **460**, 425–49 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12692859>.

- [347] Pacák, K. & Palkovits, M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine reviews* **22**, 502–48 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11493581>.
- [348] Pace, T. W. & Heim, C. M. A short review on the psychoneuroimmunology of posttraumatic stress disorder: from risk factors to medical comorbidities. *Brain, behavior, and immunity* **25**, 6–13 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20934505>.
- [349] Palomares-Castillo, E., Hernández-Pérez, O. R., Pérez-Carrera, D., Crespo-Ramírez, M., Fuxe, K. & Pérez de la Mora, M. The intercalated paracapsular islands as a module for integration of signals regulating anxiety in the amygdala. *Brain research* **1476**, 211–34 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22516107>.
- [350] Paré, D. a. & Smith, Y. The intercalated cell masses project to the central and medial nuclei of the amygdala in cats. *Neuroscience* **57**, 1077–90 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8309544>.
- [351] Paré, D. b. & Smith, Y. Distribution of GABA immunoreactivity in the amygdaloid complex of the cat. *Neuroscience* **57**, 1061–76 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8309543>.
- [352] Paré, D., Smith, Y. & Paré, J. Intra-amygdaloid projections of the basolateral and basomedial nuclei in the cat: Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin anterograde tracing at the light and electron microscopic level. *Neuroscience* **69**, 567–83 (1995). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8552250>.
- [353] Parker, K. J. & Maestriperi, D. Identifying key features of early stressful experiences that produce stress vulnerability and resilience in primates. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **35**, 1466–83 (2011). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763410001430>.
- [354] Pascucci, T., Ventura, R., Latagliata, E. C., Cabib, S. & Puglisi-Allegra, S. The medial prefrontal cortex determines the accumbens dopamine response to stress through the opposing influences of norepinephrine and dopamine. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **17**, 2796–804 (2007). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17322559>.
- [355] Paz, R., Bauer, E. P. & Paré, D. Theta synchronizes the activity of medial prefrontal neurons during learning. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* **15**, 524–31 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2493046&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [356] Pérez Egea, R. Estimulación cerebral profunda: posibles aplicaciones en los trastornos adictivos. *Trastornos Adictivos* **12**, 144–147 (2010).
- [357] Pernar, L. Selective Activation of Corticotropin-Releasing Factor-2 Receptors on Neurochemically Identified Neurons in the Rat Dorsal Raphe Nucleus Reveals Dual Actions. *Journal of Neuroscience* **24**, 1305–1311 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14960601>.
- [358] Petersen, E., Braestrup, C. & Scheel-Krüger, J. Evidence that the anti-conflict effect of midazolam in amygdala is mediated by the specific benzodiazepine receptors. *Neuroscience letters* **53**, 285–8 (1985). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2984608>.

- [359] Peyron, C., Petit, J., Rampon, C., Jouvét, M. & Luppi, P. Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. *Neuroscience* **82**, 443–68 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9466453>.
- [360] Pfaus, J., Damsma, G., Nomikos, G., Wenkstern, D., Blaha, C., Phillips, A. & Fibiger, H. Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain research* **530**, 345–8 (1990). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2176121>.
- [361] Pfeiffer, C. The physiologic effects of restricted activity in the rat: stress effects of chronic restraint. *Experimental medicine and surgery* **25**, 201–17 (1967). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5629897>.
- [362] Pfeiffer, C. The physiologic effects of restricted activity in the rat: stress effects of chronic restraint. *Experimental medicine and surgery* **25**, 201–217 (1966).
- [363] Phillips, C. Actions of antidromic pyramidal volleys on single Betz cells in the cat. *Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences* **44**, 1–25 (1959). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13624009>.
- [364] Pierce, R. C. & Vassoler, F. M. Deep brain stimulation for the treatment of addiction: Basic and clinical studies and potential mechanisms of action (2013).
- [365] Pinto, A. & Sesack, S. R. Ultrastructural analysis of prefrontal cortical inputs to the rat amygdala: spatial relationships to presumed dopamine axons and D₁ and D₂ receptors. *Brain Structure and Function* **213**, 159–175 (2008). URL <http://link.springer.com/10.1007/s00429-008-0180-6>.
- [366] Pitkanen, A. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends in Neurosciences* **20**, 517–523 (1997). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223697011259>.
- [367] Pitkanen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N. & Ylinen, A. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Annals of the New York Academy of Sciences* **911**, 369–91 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10911886>.
- [368] Pompeiano, M., Palacios, J. & Mengod, G. Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Molecular Brain Research* **23**, 163–178 (1994). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0169328X94902232>.
- [369] Popa, D., Duvarci, S., Popescu, A. T., Léna, C. & Paré, D. Coherent amygdalocortical theta promotes fear memory consolidation during paradoxical sleep. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 6516–9 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2851973&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- [370] Potter, E., Behan, D. P., Linton, E. A., Lowry, P. J., Sawchenko, P. E. & Vale, W. W. The central distribution of a corticotropin-releasing factor (CRF)-binding protein predicts multiple sites and modes of interaction with CRF. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **89**, 4192–4196 (1992). URL <http://www.pnas.org/content/89/9/4192.short>.
- [371] Potter, E., Sutton, S., Donaldson, C., Chen, R., Perrin, M., Lewis, K., Sawchenko, P. E. & Vale, W. Distribution of corticotropin-releasing factor receptor mRNA expression in the rat brain and pituitary. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**, 8777–8781 (1994). URL <http://www.pnas.org/content/91/19/8777.short>.
- [372] Price, M., Curtis, A., Kirby, L., Valentino, R. & Lucki, I. Effects of corticotropin-releasing factor on brain serotonergic activity. *Neuropsychopharmacology* **18**, 492–502 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9571657>.
- [373] Price, M. & Lucki, I. Regulation of serotonin release in the lateral septum and striatum by corticotropin-releasing factor. *The Journal of neuroscience* **21**, 2833–41 (2001). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11306635>.
- [374] Puglisi-Allegra, S., Imperato, A., Angelucci, L. & Cabib, S. Acute stress induces time-dependent responses in dopamine mesolimbic system. *Brain research* **554**, 217–22 (1991). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1933302>.
- [375] Puglisi-Allegra, S. & Andolina, D. Serotonin and stress coping. *Behavioural Brain Research* **277**, 58–67 (2015). URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.052>.
- [376] Puig, M., Artigas, F. & Celada, P. Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation in vivo: involvement of serotonin and GABA. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **15**, 1–14 (2005). URL <http://cercor.oxfordjournals.org/content/15/1/1.abstract>.
- [377] Puig, M., Celada, P., Díaz-Mataix, L. & Artigas, F. In vivo modulation of the activity of pyramidal neurons in the rat medial prefrontal cortex by 5-HT_{2A} receptors: relationship to thalamocortical afferents. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **13**, 870–882 (2003).
- [378] Puig, M. & Gullledge, A. T. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Molecular neurobiology* **44**, 449–64 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3282112&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [379] Puig, M., Santana, N., Celada, P., Mengod, G. & Artigas, F. In vivo excitation of GABA interneurons in the medial prefrontal cortex through 5-HT₃ receptors. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **14**, 1365–75 (2004). URL <http://cercor.oxfordjournals.org/content/14/12/1365.long>.
- [380] Puig, M. V., Ushimaru, M. & Kawaguchi, Y. Two distinct activity patterns of fast-spiking interneurons during neocortical UP states. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 8428–8433 (2008). URL <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0712219105>.

- [381] Puig, M. V., Artigas, F. & Celada, P. Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation in vivo: Involvement of serotonin and GABA. *Cerebral Cortex* **15**, 1–14 (2005).
- [382] Quirk, G. J., Likhtik, E., Pelletier, J. G. & Paré, D. Stimulation of medial prefrontal cortex decreases the responsiveness of central amygdala output neurons. *The Journal of neuroscience* **23**, 8800–7 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14507980>.
- [383] Quirk GJ, M. D. Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Annu Rev Psychol* **63** 56–72 (2012).
- [384] Radley, J. J., Arias, C. M. & Sawchenko, P. E. Regional Differentiation of the Medial Prefrontal Cortex in Regulating Adaptive Responses to Acute Emotional Stress. *Journal of Neuroscience* **26**, 12967–12976 (2006). URL <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.4297-06.2006>.
- [385] Radley, J. J. & Morrison, J. H. Repeated stress and structural plasticity in the brain. *Ageing research reviews* **4**, 271–87 (2005). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163705000097>.
- [386] Ragozzino, M., Detrick, S. & Kesner, R. Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *The Journal of neuroscience* **19**, 4585–4594 (1999).
- [387] Ray, S. & Maunsell, J. H. Do gamma oscillations play a role in cerebral cortex? *Trends in Cognitive Sciences* **19**, 78–85 (2015). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136466131400254X>.
- [388] Reynolds, C., Hoch, C., Buysse, D., Houck, P., Schlernitzauer, M., Pasternak, R., Frank, E., Mazumdar, S. & Kupfer, D. Sleep after spousal bereavement: a study of recovery from stress. *Biological psychiatry* **34**, 791–7 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8292683>.
- [389] Ridderinkhof, K., van den Wildenberg, W. P., Segalowitz, S. J. & Carter, C. S. Neurocognitive mechanisms of cognitive control: the role of prefrontal cortex in action selection, response inhibition, performance monitoring, and reward-based learning. *Brain and cognition* **56**, 129–40 (2004). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278262604002866>.
- [390] Ripoll, N., Hascoët, M. & Bourin, M. Implication of 5-HT_{2A} subtype receptors in DOI activity in the four-plates test-retest paradigm in mice. *Behavioural brain research* **166**, 131–9 (2006). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432805003293>.
- [391] Ripoll, N., Nic Dhonnchadha, B. A., Sébille, V., Bourin, M. & Hascoët, M. The four-plates test-retest paradigm to discriminate anxiolytic effects. *Psychopharmacology* **180**, 73–83 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15918077>.
- [392] Robbins, T. W. & Everitt, B. J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current Opinion in Neurobiology* **6**, 228–236 (1996). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959438896800778>.

- [393] Roberts, A. J., Krucker, T., Levy, C. L., Slanina, K. A., Sutcliffe, J. & Hedlund, P. B. Mice lacking 5-HT receptors show specific impairments in contextual learning. *The European journal of neuroscience* **19**, 1913–22 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15078565>.
- [394] Roberts, C., Allen, L., Langmead, C., Hagan, J., Middlemiss, D. & Price, G. The effect of SB-269970, a 5-HT(7) receptor antagonist, on 5-HT release from serotonergic terminals and cell bodies. *British journal of pharmacology* **132**, 1574–80 (2001). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1572709&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [395] Roche, M., Commons, K. G., Peoples, A. & Valentino, R. J. Circuitry underlying regulation of the serotonergic system by swim stress. *The Journal of neuroscience* **23**, 970–7 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12574426>.
- [396] Rodríguez-Fernández, J. M., García-Acero, M. & Franco, P. Neurobiología del estrés agudo y crónico: Su efecto en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y la memoria. *Revista Ecuatoriana de Neurología* **21**, 1–3 (2012).
- [397] Rogan, M. T. & LeDoux, J. E. Emotion: Systems, Cells, Synaptic Plasticity. *Cell* **85**, 469–475 (1996). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400812477>.
- [398] Ronzoni, G., Antón, M., Mora, F., Segovia, G. & Arco, A. D. Infralimbic cortex controls the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and the formation of aversive memory: Effects of environmental enrichment. *Behavioural Brain Research* **297**, 338–344 (2015). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432815302515>.
- [399] Roozendaal, B. The Basolateral Amygdala Interacts with the Medial Prefrontal Cortex in Regulating Glucocorticoid Effects on Working Memory Impairment. *Journal of Neuroscience* **24**, 1385–1392 (2004). URL <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.4664-03.2004>.
- [400] Roozendaal, B., McReynolds, J. R., Van der Zee, E. a., Lee, S., McGaugh, J. L. & McIntyre, C. K. Glucocorticoid Effects on Memory Consolidation Depend on Functional Interactions between the Medial Prefrontal Cortex and Basolateral Amygdala. *Journal of Neuroscience* **29**, 14299–14308 (2009). URL <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3626-09.2009>.
- [401] Roozendaal, B. Systems mediating acute glucocorticoid effects on memory consolidation and retrieval. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **27**, 1213–1223 (2003).
- [402] Rosanova, M. & Ulrich, D. Pattern-specific associative long-term potentiation induced by a sleep spindle-related spike train. *The Journal of neuroscience* **25**, 9398–405 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16221848>.
- [403] Royer, S., Martina, M. & Paré, D. An inhibitory interface gates impulse traffic between the input and output stations of the amygdala. *The Journal of neuroscience* **19**, 10575–83 (1999). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10575053>.

- [404] Royer, S. & Paré, D. Bidirectional synaptic plasticity in intercalated amygdala neurons and the extinction of conditioned fear responses. *Neuroscience* **115**, 455–62 (2002). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12421611>.
- [405] Rushworth, M., Noonan, M., Boorman, E., Walton, M. & Behrens, T. Frontal Cortex and Reward-Guided Learning and Decision-Making. *Neuron* **70**, 1054–1069 (2011). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627311003953>.
- [406] Sah, P., Faber, E., Lopez De Armentia, M. & Power, J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological reviews* **83**, 803–34 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12843409>.
- [407] Saha, S., Gamboa-Esteves, F. O. & Batten, T. F. Differential distribution of 5-HT 1A and 5-HT 1B-like immunoreactivities in rat central nucleus of the amygdala neurones projecting to the caudal dorso-medial medulla oblongata. *Brain research* **1330**, 20–30 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20226766>.
- [408] Salamone, J. Complex motor and sensorimotor functions of striatal and accumbens dopamine: involvement in instrumental behavior processes. *Psychopharmacology* **107**, 160–74 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1615120>.
- [409] Salgado, S. & Kaplitt, M. G. The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotactic and functional neurosurgery* **93**, 75–93 (2015). URL <http://www.karger.com/Article/FullText/368279>.
- [410] Sanchez-Vives, M. & McCormick, D. Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex. *Nature neuroscience* **3**, 1027–34 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11017176>.
- [411] Santana, N., Bortolozzi, A., Serrats, J., Mengod, G. & Artigas, F. Expression of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **14**, 1100–9 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15115744>.
- [412] Sapolsky, R. Why stress is bad for your brain. *Science (New York, N.Y.)* **273**, 749–50 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8701325>.
- [413] Scheel-Krüger, J. & Petersen, E. Anticonflict effect of the benzodiazepines mediated by a GABAergic mechanism in the amygdala. *European journal of pharmacology* **82**, 115–6 (1982). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7128677>.
- [414] Schermuly, I., Wolf, D., Lieb, K., Stoeter, P. & Fellgiebel, A. State dependent posterior hippocampal volume increases in patients with major depressive disorder. *Journal of affective disorders* **135**, 405–9 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21849213>.
- [415] Schlaepfer, T. E., Cohen, M. X., Frick, C., Kosel, M., Brodesser, D., Axmacher, N., Joe, A. Y., Kreft, M., Lenartz, D. & Sturm, V. Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression. *Neuropsychopharmacology* **33**, 368–77 (2008). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17429407>.

- [416] Schmidt, H. D. & Pierce, R. Cocaine-induced neuroadaptations in glutamate transmission: potential therapeutic targets for craving and addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1187**, 35–75 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20201846>.
- [417] Schmuckermair, C., Gaburro, S., Sah, A., Landgraf, R., Sartori, S. B. & Singewald, N. Behavioral and neurobiological effects of deep brain stimulation in a mouse model of high anxiety- and depression-like behavior. *Neuropsychopharmacology* **38**, 1234–44 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3656366&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [418] Schulkin, J., W. Gold, P. & S. McEwen, B. Infuction of corticotropi-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: Implication for understanding the states of fear and anxiety allostatic load. *Psychoneuroendocrinology* **23**, 219–243 (1998). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453097000991>.
- [419] Schwindel, C. & McNaughton, B. L. Hippocampal-cortical interactions and the dynamics of memory trace reactivation. *Progress in brain research* **193**, 163–77 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21854962>.
- [420] Seidenbecher, T., Laxmi, T., Stork, O. & Pape, H.-C. Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science (New York, N.Y.)* **301**, 846–50 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12907806>.
- [421] Sejnowski, T. J. & Destexhe, A. Why do we sleep? *Brain Research* **886**, 208–223 (2000). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899300030079>.
- [422] Sesack, S., Deutch, A., Roth, R. & Bunney, B. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *The Journal of comparative neurology* **290**, 213–42 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2592611>.
- [423] Siapas, A. G. & Wilson, M. a. Coordinated interactions between hippocampal ripples and cortical spindles during slow-wave sleep. *Neuron* **21**, 1123–1128 (1998).
- [424] Sidtis, J. J., Tagliati, M., Alterman, R., Sidtis, D., Dhawan, V. & Eidelberg, D. Therapeutic high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson’s disease produces global increases in cerebral blood flow. *Journal of cerebral blood flow and metabolism* **32**, 41–9 (2012). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3323302&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [425] Silva, P. D. & Rachman, S. *Obsessive-compulsive Disorder: The Facts* (Oxford University Press, 2004). URL <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=u7ypeq04cggC&pgis=1>.
- [426] Simansky, K. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behavioural brain research* **73**, 37–42 (1996). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8788474>.

- [427] Sinton, C., Fitch, T., Petty, F. & Haley, R. Stressful manipulations that elevate corticosterone reduce blood-brain barrier permeability to pyridostigmine in the Rat. *Toxicology and applied pharmacology* **165**, 99–105 (2000). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X00989312>.
- [428] Slavich, G. M. & Irwin, M. R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychological bulletin* **140**, 774–815 (2014). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4006295&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [429] Smith, Y. & Paré, D. Intra-amygdaloid projections of the lateral nucleus in the cat: PHA-L anterograde labeling combined with postembedding GABA and glutamate immunocytochemistry. *The Journal of comparative neurology* **342**, 232–48 (1994). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7911130>.
- [430] Spencer, K. M., Nestor, P. G., Niznikiewicz, M. A., Salisbury, D. F., Shenton, M. E. & McCarley, R. W. Abnormal neural synchrony in schizophrenia. *The Journal of neuroscience* **23**, 7407–11 (2003). URL <http://www.jneurosci.org/content/23/19/7407.abstract>.
- [431] Sprouse, J. & Aghajanian, G. Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse (New York, N.Y.)* **1**, 3–9 (1987). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3505364>.
- [432] Staub, D. R., Evans, A. K. & Lowry, C. A. Evidence supporting a role for corticotropin-releasing factor type 2 (CRF₂) receptors in the regulation of subpopulations of serotonergic neurons. *Brain research* **1070**, 77–89 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16403469>.
- [433] Steimer, T. The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in clinical neuroscience* **4**, 231–49 (2002). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3181681&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [434] Steinbusch, H. & Nieuwenhuys, R. Localization of serotonin-like immunoreactivity in the central nervous system and pituitary of the rat, with special references to the innervation of the hypothalamus. *Advances in experimental medicine and biology* **133**, 7–35 (1981). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7032251>.
- [435] Steinbusch. Serotonin-immunoreactive neurons and their projections in the CNS. In *Handbook of chemical neuroanatomy, Vol 3 Classical transmitter and transmitter receptors in the CNS, Pt II*, 68–125 (Elsevier, 1984).
- [436] Steinbusch HWM, N. R. The raphe nuclei of the rat brainstem: a cytoarchitectonic and immunohistochemical study. *Chemical Neuroanatomy* 131–207. (1983).
- [437] Steiner, Heinz & Tseng, K. Y. *Handbook of Basal Ganglia Structure and Function* (Academic Press, 2010). URL <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=Fu1SefIyEysC&pgis=1>.
- [438] Steriade, M. Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* **137**, 1087–106 (2006). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030645220501153X>.

- [439] Steriade, M., Amzica, F. & Contreras, D. Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation. *The Journal of neuroscience* **16**, 392-417 (1996).
- [440] Steriade, M., Amzica, F. & Nuñez, A. Cholinergic and noradrenergic modulation of the slow (approximately 0.3 Hz) oscillation in neocortical cells. *Journal of neurophysiology* **70**, 1385-400 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8283204>.
- [441] Steriade, M., Contreras, D., Amzica, F. & Timofeev, I. Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous oscillations in intrathalamic and thalamocortical networks. *The Journal of neuroscience* **16**, 2788-2808 (1996).
- [442] Steriade, M., Contreras, D., Curró Dossi, R. & Nuñez, A. The slow (< 1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *The Journal of neuroscience* **13**, 3284-99 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8340808>.
- [443] Steriade, M., McCormick, D. & Sejnowski, T. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science (New York, N.Y.)* **262**, 679-85 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8235588>.
- [444] Steriade, M. *Neuronal Substrates of Sleep and Epilepsy* (Cambridge University Press, 2003). URL <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=J--vNNwDgG8C&pgis=1>.
- [445] Steriade, M. & Timofeev, I. Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron* **37**, 563-76 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12597855>.
- [446] Stickgold, R. Sleep-dependent memory consolidation. *Nature* **437**, 1272-8 (2005). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16251952>.
- [447] Stone a, S. S., Teixeira, C. M., Devito, L. M., Zaslavsky, K., Josselyn, S. A., Lozano, A. M. & Frankland, P. W. Stimulation of entorhinal cortex promotes adult neurogenesis and facilitates spatial memory. *The Journal of neuroscience* **31**, 13469-84 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21940440>.
- [448] Stone b, S. S., Teixeira, C. M., Zaslavsky, K., Wheeler, A. L., Martinez-Canabal, A., Wang, A. H., Sakaguchi, M., Lozano, A. M. & Frankland, P. W. Functional convergence of developmentally and adult-generated granule cells in dentate gyrus circuits supporting hippocampus-dependent memory. *Hippocampus* **21**, 1348-62 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20824726>.
- [449] Stratford, T. & Kelley, A. GABA in the nucleus accumbens shell participates in the central regulation of feeding behavior. *The Journal of neuroscience* **17**, 4434-40 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9151760>.
- [450] Stujenske, J. M., Likhtik, E., Topiwala, M. A. & Gordon, J. A. Fear and safety engage competing patterns of theta-gamma coupling in the basolateral amygdala. *Neuron* **83**, 919-33 (2014). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4141236&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- [451] Sturm, V., Lenartz, D., Koulousakis, A., Treuer, H., Herholz, K., Klein, J. C. & Klosterkötter, J. The nucleus accumbens: a target for deep brain stimulation in obsessive-compulsive- and anxiety-disorders. *Journal of chemical neuroanatomy* **26**, 293–9 (2003). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14729131>.
- [452] Sugase-Miyamoto, Y. & Richmond, B. J. Neuronal signals in the monkey basolateral amygdala during reward schedules. *The Journal of neuroscience* **25**, 11071–83 (2005). URL <http://www.jneurosci.org/content/25/48/11071.short>.
- [453] Sullivan, R. & Gratton, A. Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *The Journal of neuroscience* **19**, 2834–40 (1999). URL <http://www.jneurosci.org/content/19/7/2834.abstract>.
- [454] Sullivan, R. M. & Gratton, A. Prefrontal cortical regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal function in the rat and implications for psychopathology: side matters. *Psychoneuroendocrinology* **27**, 99–114 (2002). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11750772>.
- [455] Sun, Y.-n., Wang, T., Wang, Y., Han, L.-n., Li, L.-b., Zhang, Y.-m. & Liu, J. Neuropharmacology Activation of 5-HT $1A$ receptors in the medial subdivision of the central nucleus of the amygdala produces anxiolytic effects in a rat model of Parkinson ' s disease. *Neuropharmacology* **95** (2015).
- [456] Sun, Y., Giacobbe, P., Tang, C. W., Barr, M. S., Rajji, T., Kennedy, S. H., Fitzgerald, P. B., Lozano, A. M., Wong, W. & Daskalakis, Z. J. Deep Brain Stimulation Modulates Gamma Oscillations and Theta-Gamma Coupling in Treatment Resistant Depression. *Brain stimulation* **8**, 1033–42 (2015). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26195320>.
- [457] Swanson, L. & Petrovich, G. What is the amygdala? *Trends in neurosciences* **21**, 323–31 (1998). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9720596>.
- [458] Swanson, L., Sawchenko, P., Rivier, J. & Vale, W. Organization of Ovine Corticotropin-Releasing Factor Immunoreactive Cells and Fibers in the Rat Brain: An Immunohistochemical Study. *Neuroendocrinology* **36**, 165–186 (1983). URL <http://www.karger.com/Article/FullText/123454>.
- [459] Swedo, S. E. Obsessive-Compulsive Disorder in Children and Adolescents. *Archives of General Psychiatry* **46**, 335 (1989). URL <http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=494524>.
- [460] Takagishi, M. & Chiba, T. Efferent projections of the infralimbic (area 25) region of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tracer PHA-L study. *Brain Research* **566**, 26–39 (1991). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006899391916775>.
- [461] Tan, S. K., Hartung, H., Visser-Vandewalle, V., Steinbusch, H. W., Temel, Y. & Sharp, T. A combined in vivo neurochemical and electrophysiological analysis of the effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on 5-HT transmission. *Experimental neurology* **233**, 145–53 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21925498>.

- [462] Tanja Jovanovic, K. J. How the Neurocircuitry and Genetics of Fear Inhibition May Inform Our Understanding of PTSD. *American Journal Psychiatry* **167**, 648–662 (2010). NIHMS150003.
- [463] Todd M. Herrington, 1, 2 Jennifer J. Cheng, 1, . & Eskandar¹, E. N. Mechanisms of deep brain stimulation. *Journal Neurophysiology* **17**, 19–38 (2015).
- [464] Torck, I. Raphe nuclei and serotonin containing systems. In *The Rat Nervous System*(G. Paxinos, ed.), Vol. 2., 43–78 (1985).
- [465] Tovote, P., Fadok, J. P. & Lüthi, A. Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience* **16**, 317–331 (2015). URL <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3945>.
- [466] Tsigos, C. & Chrousos, G. P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research* **53**, 865–71 (2002). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377295>.
- [467] Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S.-Y., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., Thompson, K. R., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C. & Deisseroth, K. Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature* **471**, 358–62 (2011). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3154022&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [468] Tye, S. J., Frye, M. A. & Lee, K. H. Disrupting disordered neurocircuitry: treating refractory psychiatric illness with neuromodulation. *Mayo Clinic proceedings* **84**, 522–32 (2009). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2688626&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [469] Tynan, R. J., Beynon, S. B., Hinwood, M., Johnson, S. J., Nilsson, M., Woods, J. J. & Walker, F. R. Chronic stress-induced disruption of the astrocyte network is driven by structural atrophy and not loss of astrocytes. *Acta neuropathologica* **126**, 75–91 (2013). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23512378>.
- [470] Ulrich-Lai, Y. M. & Herman, J. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews. Neuroscience* **10**, 397–409 (2009). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19469025>.
- [471] Valentino, R. & Commons, K. Peptides that fine-tune the serotonin system. *Neuropeptides* **39**, 1–8 (2005). URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143417904000940>.
- [472] Valentino, R. J., Lucki, I. & Van Bockstaele, E. Corticotropin-releasing factor in the dorsal raphe nucleus: Linking stress coping and addiction. *Brain research* **1314**, 29–37 (2010). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2819581&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [473] Van Praag, H. M. & Plutchik, R. Depression type and depression severity in relation to risk of violent suicide attempt. *Psychiatry research* **12**, 333–338 (1984).
- [474] Van Bockstaele, E. J., Biswas, A. & Pickel, V. M. Topography of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus that send axon collaterals to the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Brain Research*

- 624, 188–198 (1993). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/000689939390077Z>.
- [475] van der Kooy, D. & Kuypers, H. Fluorescent retrograde double labeling: axonal branching in the ascending raphe and nigral projections. *Science (New York, N.Y.)* **204**, 873–5 (1979). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/441742>.
- [476] van der Stelt, O. & Belger, A. Application of electroencephalography to the study of cognitive and brain functions in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* **33**, 955–70 (2007). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2632335&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [477] van Dijk, A., Klompmakers, A. a., Feenstra, M. G. & Denys, D. Deep brain stimulation of the accumbens increases dopamine, serotonin, and noradrenaline in the prefrontal cortex. *Journal of neurochemistry* **123**, 897–903 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23061486>.
- [478] Van Laere, K., Nuttin, B., Gabriels, L., Dupont, P., Rasmussen, S., Greenberg, B. D. & Cosyns, P. Metabolic imaging of anterior capsular stimulation in refractory obsessive-compulsive disorder: a key role for the subgenual anterior cingulate and ventral striatum. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **47**, 740–7 (2006). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16644742>.
- [479] Van Someren, E., Van Der Werf, Y., Roelfsema, P., Mansvelder, H. & da Silva, F. Slow brain oscillations of sleep, resting state, and vigilance. *Progress in brain research* **193**, 3–15 (2011). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21854952>.
- [480] Vandehey, N. T., Garell, P., Hampel, J. A., Murali, D., Smith, E. M., Davidson, R., Converse, A. K., Nickles, R. & Christian, B. T. PET measurement of changes in D₂/D₃ dopamine receptor binding in a nonhuman primate during chronic deep brain stimulation of the bed nucleus of the stria terminalis. *Journal of neuroscience methods* **176**, 129–35 (2009). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2638170&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [481] Vassoler, F. M., Schmidt, H. D., Gerard, M. E., Famous, K. R., Ciraulo, D. a., Kornetsky, C., Knapp, C. M. & Pierce, R. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell attenuates cocaine priming-induced reinstatement of drug seeking in rats. *The Journal of neuroscience* **28**, 8735–9 (2008). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2585378&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [482] Vassoler, F. M., White, S. L., Hopkins, T. J., Guercio, L. A., Espallergues, J., Berton, O., Schmidt, H. D. & Pierce, R. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell attenuates cocaine reinstatement through local and antidromic activation. *The Journal of neuroscience* **33**, 14446–54 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3761051&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [483] Vedam-Mai, V., van Battum, E., Kamphuis, W., Feenstra, M., Denys, D., Reynolds, B., Okun, M. & Hol, E. Deep brain stimulation and the

- role of astrocytes. *Molecular psychiatry* **17**, 124–31, 115 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21625231>.
- [484] Veer, I. M., Oei, N. Y., Spinhoven, P., van Buchem, M. A., Elzinga, B. M. & Rombouts, S. A. Endogenous cortisol is associated with functional connectivity between the amygdala and medial prefrontal cortex. *Psychoneuroendocrinology* **37**, 1039–47 (2012). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22204928>.
- [485] Veerakumar, A., Challis, C., Gupta, P., Da, J., Upadhyay, A., Beck, S. G. & Berton, O. Antidepressant-like effects of cortical deep brain stimulation coincide with pro-neuroplastic adaptations of serotonin systems. *Biological psychiatry* **76**, 203–12 (2014). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4072754&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [486] Vertes, R. Brainstem afferents to the basal forebrain in the rat. *Neuroscience* **24**, 907–35 (1988). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3380307>.
- [487] Vertes, R. & Crane, A. Distribution, quantification, and morphological characteristics of serotonin-immunoreactive cells of the supralemniscal nucleus (B9) and pontomesencephalic reticular formation in the rat. *The Journal of comparative neurology* **378**, 411–24 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9034900>.
- [488] Vertes, R., Fortin, W. & Crane, A. Projections of the median raphe nucleus in the rat. *The Journal of comparative neurology* **407**, 555–82 (1999). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10235645>.
- [489] Vertes, R. P. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse (New York, N.Y.)* **51**, 32–58 (2004). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14579424>.
- [490] Vidal-gonzalez, I., Vidal-gonzalez, B., Rauch, S. L. & Quirk, G. J. Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learning & Memory* **728–733** (2006).
- [491] Voget, M., Rummel, J., Avchalumov, Y., Sohr, R., Haumesser, J. K., Rea, E., Mathé, A. A., Hadar, R., van Riesen, C. & Winter, C. Altered local field potential activity and serotonergic neurotransmission are further characteristics of the Flinders sensitive line rat model of depression. *Behavioural brain research* **291**, 299–305 (2015). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432815003563>.
- [492] von der Malsburg, C. Binding in models of perception and brain function. *Current opinion in neurobiology* **5**, 520–6 (1995). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7488855>.
- [493] von der Malsburg, C. & Schneider, W. A neural cocktail-party processor. *Biological cybernetics* **54**, 29–40 (1986). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3719028>.
- [494] Voorn, P., Gerfen, C. & Groenewegen, H. Compartmental organization of the ventral striatum of the rat: immunohistochemical distribution of enkephalin, substance P, dopamine, and calcium-binding protein. *The Journal of comparative neurology* **289**, 189–201 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2478598>.

- [495] Vyas, A., Mitra, R., Shankaranarayana Rao, B. S. & Chattarji, S. Chronic Stress Induces Contrasting Patterns of Dendritic Remodeling in Hippocampal and Amygdaloid Neurons. *J. Neurosci.* **22**, 6810–6818 (2002). URL <http://www.jneurosci.org/content/22/15/6810.short>.
- [496] Wang, L., Dai, W., Su, Y., Wang, G., Tan, Y., Jin, Z., Zeng, Y., Yu, X., Chen, W., Wang, X. & Si, T. Amplitude of low-frequency oscillations in first-episode, treatment-naive patients with major depressive disorder: a resting-state functional MRI study. *PloS one* **7**, e48658 (2012). URL <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0048658>.
- [497] Wang, L., Kong, Q., Li, K., Su, Y., Zeng, Y., Zhang, Q., Dai, W., Xia, M., Wang, G., Jin, Z., Yu, X. & Si, T. Frequency-dependent changes in amplitude of low-frequency oscillations in depression: A resting-state fMRI study. *Neuroscience letters* **614**, 105–111 (2016). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26797652>.
- [498] Wang, Q., Ochiai, H. & Nakai, Y. GABAergic innervation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat studied by electron microscopy double immunostaining. *Brain research bulletin* **29**, 943–8 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1473026>.
- [499] Waselus, M., Valentino, R. & Bockstaele, E. Collateralized dorsal raphe nucleus projections: a mechanism for the integration of diverse functions during stress. *Journal of chemical ...* **41**, 266–280 (2011). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891061811000470>.
- [500] Waselus, M., Nazzaro, C., Valentino, R. J. & Van Bockstaele, E. J. Stress-induced redistribution of corticotropin-releasing factor receptor subtypes in the dorsal raphe nucleus. *Biological psychiatry* **66**, 76–83 (2009). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2728006&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [501] Weiss, J. M., Glazer, H. I., Pohorecky, L. A., Brick, J. & Miller, N. E. Effects of chronic exposure to stressors on avoidance-escape behavior and on brain norepinephrine*. *Psychosomatic medicine* **37**, 522–534 (1975).
- [502] Weisstaub, N. V., Zhou, M., Lira, A., Lambe, E., González-Maeso, J., Hornung, J.-P., Sibille, E., Underwood, M., Itohara, S., Dauer, W. T., Ansorge, M. S., Morelli, E., Mann, J., Toth, M., Aghajanian, G., Sealton, S. C., Hen, R. & Gingrich, J. A. Cortical 5-HT_{2A} receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice. *Science (New York, N.Y.)* **313**, 536–540 (2006).
- [503] Wichmann, T. & DeLong, M. R. Deep-brain stimulation for basal ganglia disorders (2011).
- [504] Williams, A. D. & Moulds, M. L. An investigation of the cognitive and experiential features of intrusive memories in depression. *Memory (Hove, England)* **15**, 912–20 (2007). URL <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09658210701508369>.
- [505] Willins, D., Deutch, A. & Roth, B. Serotonin 5-HT_{2A} receptors are expressed on pyramidal cells and interneurons in the rat cortex. *Synapse (New York, N.Y.)* **27**, 79–82 (1997). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9268067>.

- [506] Wise, R. & Rompre, P. Brain dopamine and reward. *Annual review of psychology* **40**, 191–225 (1989). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2648975>.
- [507] Wood, S. K., Zhang, X.-Y., Reyes, B. A., Lee, C. S., Van Bockstaele, E. J. & Valentino, R. J. Cellular adaptations of dorsal raphe serotonin neurons associated with the development of active coping in response to social stress. *Biological psychiatry* **73**, 1087–94 (2013). URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3648616&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [508] Yehuda, R. Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1179**, 56–69 (2009). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19906232>.
- [509] Záborszky, L., Alheid, G., Beinfeld, M., Eiden, L., Heimer, L. & Palkovits, M. Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: a morphological and radioimmunological study. *Neuroscience* **14**, 427–53 (1985). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3887206>.
- [510] Zahm, D. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience and biobehavioral reviews* **24**, 85–105 (2000). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10654664>.
- [511] Zahm, D. & Brog, J. On the significance of subterritories in the "accumbens" part of the rat ventral striatum. *Neuroscience* **50**, 751–67 (1992). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1448200>.
- [512] Zahm, D. & Heimer, L. Specificity in the efferent projections of the nucleus accumbens in the rat: comparison of the rostral pole projection patterns with those of the core and shell. *The Journal of comparative neurology* **327**, 220–32 (1993). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8425943>.
- [513] Zheng, C. & Zhang, T. Synaptic plasticity-related neural oscillations on hippocampus-prefrontal cortex pathway in depression. *Neuroscience* **292**, 170–80 (2015). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452215001396>.

NOTA SOBRE LA MAQUETACIÓ

Aquest document fou maquetat amb \LaTeX , amb el paquet `classicthesis` desenvolupat per André Miede. Aquest estil fou inspirat pel llibre de Robert Bringhurst sobre tipografia "*The Elements of Typographic Style*".
`classicthesis` està disponible per a \LaTeX and \LyX :

<https://bitbucket.org/amiede/classicthesis/>