



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma  
de Barcelona

TESI DOCTORAL

**Potenciació de l'atenció i de la memòria en models  
animals de dèficit cognitiu per inactivació dels nuclis  
intralaminars del tàlem**

**Pol Barrós Millàs**

Tesi doctoral dirigida per:

**Dra. Gemma Guillazo Blanch**

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut

Institut de Neurociències

Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra, 2017



TESI DOCTORAL

**Potenciació de l'atenció i de la memòria en models animals de dèficit cognitiu per inactivació dels nuclis intralaminars del tàlem**

**Pol Barrós Millàs**

Tesi doctoral dirigida per:

**Dra. Gemma Guillazo Blanch**

Departament de Psicobiologia i de Metodologia de les Ciències de la Salut

Institut de Neurociències

Universitat Autònoma de Barcelona

Bellaterra, 2017



Aquest treball ha estat possible gràcies a:

Una beca de Formació Investigadora (FI-DGR 2012) de la Generalitat de Catalunya

- Un projecte I+D (PSI2008-04267) del Ministerio de Ciencia e Innovación
- Un projecte I+D (PSI2011-26862) del Ministerio de Ciencia e Innovación
- Un projecte I+D (PSI2014-52660-R,) del Ministerio de Economía y Competitividad



# Índex

I.	INTRODUCCIÓ	1
II.	PLANTEJAMENTS I OBJECTIUS	2
III.	MARC TEÒRIC I ANTECEDENTS EXPERIMENTALS	4
	(a) Nuclis intralaminars del tàlem: nucli parafascicular	
	1. Neuroanatomia i neuroquímica	4
	2. Relacions funcionals: funcions cognitives	11
	(b) El còrtex prefrontal	
	1. Neuroanatomia i neuroquímica	16
	2. Relacions funcionals: funcions cognitives	20
	(c) Modulació dels receptors NMDA i processos d'aprenentatge i memòria: la D-cicloserina.	
	1. Estructura de receptors NMDA	39
	2. NMDAr i plasticitat sinàptica	44
	3. D-cicloserina: composició, principis actius i tractaments	50
IV.	TREBALL EXPERIMENTAL	61
	(a) Experiment 1: Efectes de la inactivació temporal del nucli PF sobre una tasca de discriminació visual	
	1. Objectiu experimental	61
	2. Material i mètodes	62
	i. Subjectes	
	ii. Disseny experimental	
	iii. Separació, handling i restricció alimentària	
	iv. Cirurgia esterotàxica	
	v. Microinfusió	
	vi. Tasca de discriminació visual atencional	
	vii. Entrenament	
	viii. Adquisició	
	ix. Reversió	
	x. Tasca de camp obert	
	xi. Histologia	
	xii. Estadística	
	3. Resultats	71
	(b) Experiment 2: Efectes del tractament de DCS sobre el còrtex prefrontal per revertir els efectes de dèficit cognitiu	
	1. Objectiu experimental	86
	2. Material i mètodes	86
	i. Subjectes	
	ii. Disseny experimental	



	iii. Separació, handling i restricció alimentaria	
	iv. Cirurgia esterotàxica	
	v. Microinfusió	
	vi. Tasca de discriminació visual atencional	
	vii. Entrenament	
	viii. Adquisició	
	ix. Reversal	
	x. Tasca de camp obert	
	xi. Histologia	
	xii. Estadística	
	3. Resultats	94
V.	DISCUSSIÓ	112
VI.	CONCLUSIONS	123
VII.	BIBLIOGRAFIA	124



## I. INTRODUCCIÓ

L'objectiu general del present treball de recerca ha estat estudiar els efectes del tractament de D-cicloserina (DCS), un agonista parcial dels receptors N-Metil D-aspartat (rNMDA), sobre models animals de dèficit cognitiu. De manera específica hem procurat esbrinar els efectes de la infusió bilateral de DCS sobre el còrtex prelímbic (CPL), una regió estretament relacionada amb funcions cognitives, sotmetent els subjectes a l'aprenentatge d'adquisició i reversió d'un protocol de discriminació visual mitjançant Skinner Box. Sota aquesta premissa s'han realitzat dos blocs experimentals. El primer consisteix en estudiar els efectes del muscimol, un agonista dels receptors GABA<sub>A</sub>, sobre el nucli parafascicular (PF) del tàlem per tal d'avaluar la influència d'aquest nucli intralaminar en processos prefrontal-depenents i si és el cas, establir un model animal de dèficit cognitiu. Seguidament, el segon bloc experimental, es basa en l'estudi de la capacitat de la DCS, administrada en el CPL, de reversió del dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal en del nucli PF del tàlem estudiat en el primer bloc.

Aquesta tesi doctoral s'emmarca dins els projectes d'investigació titulats "Implicació dels sistemes de neurotransmissió colinèrgic i glutamatèrgic en la modulació dels processos cognitius: atenció, aprenentatge i memòria (PSI2008-06267) i "Potenciació de l'atenció i de la memòria en models animals de dèficit cognitiu per envelliment i lesió cerebral" (PSI2011-26862) i "Potenciació de la memòria relacional i la memòria de treball mitjançant estimulació cerebral en animals amb dèficit cognitiu: conducta i neurofisiologia" (PSI2014-52660-R) dirigits per la Dra. Margarita Martí Nicolovius i la Dra. Gemma Guillazo Blanch, els quals formen part d'una de les línies de recerca del laboratori de Psicobiologia de l'Institut de Neurociències de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Els treballs d'aquesta tesi doctoral es presenten com s'indica en l'índex. Primerament es realitzarà una aproximació teòrica dels elements tractats fent una recopilació dels antecedents experimentals més rellevants. A continuació s'exposarà el treball experimental dividit en els dos grans blocs anteriorment esmentats, en ells es desenvoluparà els apartats típics de tot experiment: l'objectiu, els mètodes i els resultats. Finalment es presentarà la discussió envers l'estudi, les conclusions més clares sobre aquest i la bibliografia citada al llarg del text.

## II. PLANTEJAMENTS I OBJECTIUS

En tots i cada un dels treballs científics que nodreixen la literatura es plantegen qüestions sobre diversos aspectes del nostre entorn que requereixen respostes. Els motius per iniciar i mantenir aquest exercici constant de preguntes i solucions pot venir donat per la necessitat humana de millorar intel·lectualment, descobrir quelcom desconegut, pal·liar l'efecte negatiu d'un problema, optimitzar recursos o satisfer demandes. El procés es pot dur a terme de manera íntima i personal, però no és fins que s'utilitzen les eines del mètode científic i els canals de comunicació establerts per la difusió de la ciència que no pren un veritable sentit pràctic. Així doncs, complint amb els requisits mínims proposats per la comunitat acadèmica podem ser participants de l'ampliació raonada i sostenible del coneixement, al mateix temps que garantim un bon nivell de la feina feta i la seva transcendència més enllà de l'individu.

El present estudi pretén aportar nou contingut al conjunt de dades conegudes sobre les relacions anatòmiques i funcionals entre el nucli parafascicular del tàlem i el còrtex prelímbic. Per aquest motiu, primerament aquesta tesi recull i selecciona els treballs realitzats per investigadors arreu del món al llarg de dècades, amb la intenció de presentar un marc teòric com a punt de partida dels nostres objectius.

Plantejar un o varis objectius experimentals sense esbossar mínimament una cerca científica basada en una hipòtesis esdevé una feina buida. La hipòtesis que ens ocupa en el present treball serà posada a prova mitjançant procediments empírics específics que poden ser considerats el guió a través del qual la investigació prendrà forma.

*“La transmissió glutamatèrgica al còrtex prelímbic (CPL) modula els processos d'aprenentatge i memòria, essent capaç de revertir el dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal de la influència del nucli parafascicular (PF) del tàlem sobre l'escorça prefrontal”*

L'Experiment 1 pretén avaluar els efectes de la inactivació temporal del nucli PF sobre el rendiment en les tasques d'adquisició i reversió d'un protocol d'aprenentatge operant de discriminació visual atencional (DVA). Aquest experiment actua com a primera aproximació a la hipòtesis plantejada, doncs principalment té la finalitat d'establir un model de dèficit cognitiu fiable que s'utilitzarà en el mateix context experimental de la prova final. També d'aquesta manera impliquem l'estructura cerebral susceptible de ser clau en el processament cognitiu de la tasca a realitzar pels subjectes. D'aquesta manera, en aquest experiment s'avaluarà l'efecte de la inactivació temporal del nucli PF del tàlem mitjançant l'administració de muscimol (agonista GABAa), sobre la DVA. S'espera que l'alteració de les aferències talàmiques glutamatèrgiques al CPL, alterint la capacitat d'adquisició de la DVA així com la flexibilitat cognitiva associada a la tasca de reversió posterior.

En un intent d'explorar el nivell de dificultat òptim de la DVA s'ha proposat dos nivells de dificultat en funció del temps d'exposició al estímul visual (disc lluminós encès). Creant així dues durades de l'estímul (500ms i 1000ms) que posaran a prova les capacitats atencionals dels animals. Per altra banda, en funció d'un criteri d'assoliment en les fases d'entrenament de l'experiment l'animal serà igualat en condicions al inici de la prova d'adquisició, i en funció del seu rendiment en aquesta última passarà a la prova de reversió, en la qual la tasca esdevé especialment difícil i implica flexibilitat cognitiva per part del subjecte. Així doncs els animals distribuïts en quatre grups experimentals, basats en la durada del estímul lluminós i l'administració de muscimol, es sotmetran a varies fases experimentals com es descriurà més endavant.

Per una altra banda, l'Experiment 2 pretén esbrinar els efectes de la infusió intracerebral de DCS al CPL sobre la reversió del dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal del nucli PF del tàlem, en rates. D'aquesta manera, un cop realitzat l'Experiment 1 podem partir d'un model animal dèficit cognitiu basat en la inactivació temporal del PF, i es pot abordar de manera completa la hipòtesis plantejada al inici, donant resposta al plantejament general del present treball de recerca.

Es posa a prova l'efecte terapèutic de l'administració intracerebral de DCS en subjectes llur capacitats cognitives foren minvades artificialment. La tasques emprades per les proves seran les mateixes que les utilitzades en l'Experiment 1, però establint quatre grups experimentals basats en la combinació farmacològica administrada en el nucli PF (PBS o muscimol) i en el CPL (PBS o DCS).

### III. MARC TEÒRIC I ANTECEDENTS EXPERIMENTALS

(a) Nuclis intralaminars del tàlem: nucli parafascicular.

#### 1. Neuroanatomia i neuroquímica

El tàlem (del grec *thalamos*, “càmera interna”) forma la part essencial dorsal del diencèfal. Es situa prop de la línia mitja dels dos hemisferis, en la zona medial i caudal dels ganglis basals. El tàlem consta de dos lòbuls, sovint connectats per la massa intermitja, un pont de substància gris que travessa el tercer ventricle (Fig. 1A). Les projeccions talamocorticals es consideren generalment com una porta d’entrada a l’escorça, que a la vegada poden ser modulades per les projeccions corticotàlmiques. En qualsevol cas, el tàlem no es limita a ser un centre de relleu de la informació que es distribuirà cap a l’escorça, sinó que integra senyals que li arriben des de fonts molt diverses. Totes les estructures del prosencèfal que contribueixen a les funcions cognitives reben aferències des del tàlem; però depenent de la naturalesa de la informació, el tàlem selecciona subconjunts d’estructures corticals i subcorticals per a dur a terme les accions apropiades en cada situació. En conseqüència, és lògic que lesions talàmiques discretes semblin alterar un ventall ampli de funcions fisiològiques, afectives i cognitives (Varela et al., 2014; Vertes et al., 2015).

El tàlem es subdivideix en tres tipus de nuclis: els sensorials o de relleu, els nuclis límbics, i els nuclis que uneixen els dos dominis anteriors (Vertes et al., 2015). Les cèl·lules talàmiques dels nuclis sensorials reben dos tipus diferents d’aferències: conductores i moduladores. Les primeres es dirigeixen a les dendrites pròximes amb botons terminals relativament grans, i es creu que la seva funció principal es completar el relleu de descàrrega cap a estructures postsinàptiques. Per altra banda, les aferències de tipus modulador es dirigeixen a dendrites distals i afecten la transmissió de les descarregues ajustant els mecanismes cel·lulars i sinàptics propis de la generació de les mateixes, per tant s’encarregarien de “sintonitzar” el missatge de relleu mitjançant les cèl·lules talàmiques i controlant la seva probabilitat de transmissió (Varela, 2014).

Fora del tàlem sensorial, les diferències entre les aferències conductores i moduladores no són tan clares. En la divisió límbica del tàlem trobem diferents tipus de nuclis: els nuclis anteriors, els de la línia mitja, la divisió medial del nucli mediodorsal i el nucli central mitjà o centromitjà (CM) del complex intralaminar (IL). Els nuclis de la línia mitja són especialment importants i també es poden subdividir en dorsals: nucli paraventricular i nucli paratenial, que innerven a estructures subcorticals de tipus límbic com la amígdala i el nucli accumbens, i els ventrals: nucli reuniens i nucli rhomboid, els quals innerven al hipocamp i al còrtex prefrontal medial (CPFm). Per altra banda, la divisió medial del nucli mediodorsal, així com el

CM i el complex IL presenten funcions similars a les dels nuclis de la línia mitja (Vertes et al., 2015). Els nuclis de la línia mitja i el complex IL del tàlem reben denses innervacions moduladores, i alhora es troben connectades amb àrees executives com el CPFm i els ganglis basals (Varela, 2014). De fet, la majoria d'aquests nuclis es consideren integrants del sistema dels ganglis basals talamocortical; però malgrat això, actualment encara són uns grans desconeguts si es compara amb la informació de la que disposem en nuclis com els talàmics de relleu sensorial o els mateixos ganglis basals.

Els nuclis intralaminars del tàlem o complex intralaminar (IL) són un conjunt de nuclis repartits al llarg de les fibres de la làmina medul·lar interna del tàlem, la qual el divideix en les seves tres regions principals: anterior, medial i lateral (Fig. 1B). Els nuclis IL es classifiquen en rostrals i caudals, essent el grup rostral el format pel nucli centre-medial (CM), el paracentral (PC) i el centrolateral (CL), mentre que el grup caudal està constituït pel nucli PF en les rates o complex centromitjà-parafascicular (CM-PF) en els primats i altres mamífers (Smith et al., 2004). Filogenèticament, els IL rostrals representen un grup constant de nuclis; no en canvi en els IL caudals (Groenenwegen i Berendse, 1994). Així, el complex CM-PF mostra un desenvolupament diferent segons l'espècie animal. Mentre el nucli PF està present en tots els mamífers, el nucli CM apareix ben diferenciat més tard en l'escala evolutiva, augmentant la seva mida de forma paral·lela al desenvolupament del nucli putamen (Sadikot et al., 1992).

Degut a la seva connectivitat, els nuclis intralaminars tenen un paper clau en l'arousal, actuant sobre el còrtex prefrontal, la formació reticular, el nucli pedunculopòntic, el prosencèfal basal i l'hipotàlem; i en l'atenció, la memòria, la orientació i el comportament de recompensa, mitjançant la seva influència sobre el còrtex prefrontal, el còrtex motor primari, el globus pàl·lid, el putamen, el còrtex premotor, el còrtex somatosensorial primari, el nucli caudat i l'escorça parietal posterior (Saalmann, 2014; Jang et al., 2014; Silva Ade et al., 2014). Les evidències de connexió anatòmic-funcional entre els IL i estructures cognitives/executives com el CPF ens donen una sòlida perspectiva del paper del complex IL en el correcte funcionament de comportaments basats en memòria (Mair et al., 2016), del comportament exploratori i generació d'ones (Gummadavelli et al., 2015) i de l'aprenentatge predictiu a la por (Sengupta i McNally, 2014).

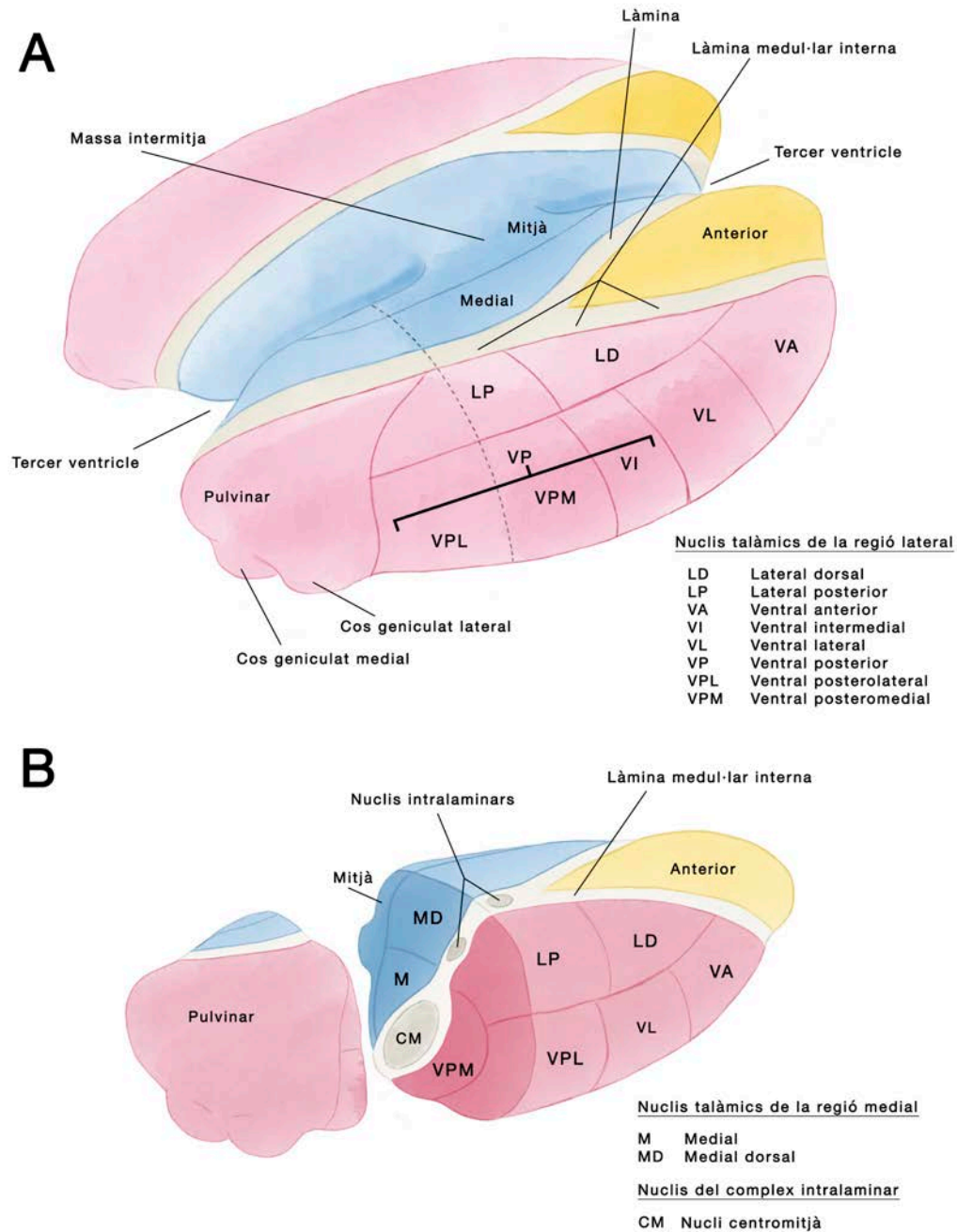
El nucli PF o el CM-PF és la principal font de projeccions talàmiques dirigides al nucli estriat (Galvan i Smith, 2011) i es considera un nucli talàmic d'ordre superior (*high order*). La característica principal que distingeix aquests nuclis talàmics d'ordre superior des de primer ordre és que almenys algunes de les seves aferències moduladores s'originen en la capa V del neocòrtex. A la vegada, aquests nuclis envien projeccions a àrees corticals diverses i, per això, es considera que participen en la comunicació cortico-cortical. Dins dels nuclis d'ordre superior, els de la línia mitja i els nuclis IL estan densament interconnectats amb àrees executives (Varela, 2014).

El nucli PF dels rosegadors consta de dues regions diferenciades per la posició que ocupen respecte el fascicle retroflexus (fr) (Fig. 2): PF medial i PF lateral. En la rata, el nucli PF limita dorsalment amb el nucli habenular lateral, els nuclis laterals posteriors del tàlem, el nucli precomisural i l'àrea pretectal; centralment amb el complex parvocel·lular posterior i lateralment amb el complex nuclear posterior del tàlem (Paxinos i Watson, 1997). En la seva part més rostral, el nucli PF acaba en punta, formant una petita extensió dins la làmina medul·lar interna, i limita amb els nuclis CL i DM del tàlem.

Al nucli PF arriben aferències des del tronc de l'encèfal i el prosencèfal basal, i aquestes són de caràcter colinèrgic (des dels nuclis parabraqiuals, tegmentals pedunculopòntics, laterodorsal i subpeduncular, així com del nucli basal magnocel·lular), serotoninèrgic (des del nucli del Rafe dorsal i la substància gris periaqüeductual) noradrenèrgic (des del *Locus coeruleus*) gabaèrgic (des del nucli entopeduncular, el nucli reticular talàmic i la substància negra reticular) i glutamatèrgic (des del col·licle superior). Alguns estudis també han identificat cèl·lules en el PF dedicades al relleu de la informació nociocèptica (Wang i Guo, 2009; Gao et al., 2012; Harte et al., 2011), i fins i tot s'ha pogut comprovar com un augment de la taxa de descarrega d'aquestes cèl·lules pot donar lloc a una isquèmia miocàrdica després d'un episodi d'oclusió de la artèria coronària. El PF tindria un paper modulador en la nociocèpció associada a la isquèmia miocàrdica aguda (Chen et al., 2016).

A nivell cortical, el nucli PF rep inputs de diferents regions com el CPF, l'escorça motora i l'escorça somatosensorial primària i secundària (Cornwall i Phillipson, 1988; Macchi i Bentivoglio, 1986; Molinari et al., 1985). A nivell subcortical, el nucli PF és diana d'abundants aferències procedents del sistema dels ganglis basals, des del globus pal·lid ventral, el caudat-putamen (CPU) i principalment del nucli entopeduncular, una de les vies de sortida més importants dels ganglis basals (Groenewegen et al., 1993; Cornwall i Phillipson, 1988; Finkelstein et al., 1996; Parent i Parent, 2005). En gats s'han observat inputs del globus pal·lid (GP) cap al nucli CM; i en primats, projeccions contra laterals des del GP intern cap al complex CM-PF (Parent i Parent, 2005; Royce et al., 1991; Sidibe et al., 1997). També hi ha estudis en gats que descriuen aferències del nucli PF que provenen del nucli central de l'amígdala (Royce et al., 1991).





**FIGURA 1. A.** Esquema simplificat de dos tàlems aïllats d'un cervell humà, i les seves regions principals. **B.** Secció coronal de tàlem dret d'un cervell humà i detall dels nuclis intralaminars i el nucli centromitjà (CM).

Respecte a la informació aferent procedent del diencèfal, diversos estudis han indentificat projeccions des del nucli reticular talàmic cap nuclis (Cornwall i Phillipson, 1988; Kolmac i Mitrofanis, 1997; Royce et al., 1991; Tsumori et al., 2002; Ullán, 1985). En rates i gats, les aferències nucli reticular del tàlem (NRT) són ipsilaterals a diferència dels primats, les quals es distribueixen de forma contra lateral (Hazarati et al., 1991; 1993; 1995; Royce et al., 1991). També s'ha demostrat l'existència d'aferències procedents del nucli geniculat ventrolateral, la zona incerta, els camps de Forel i diverses regions del l'hipotàlem, com els nuclis dorsal, lateral i posterior que envien fibres

directament al nucli PF en rates i gats (Ahlenius, 1978; Cornwall i Phillipson, 1988; Kolmac et al., 2000; Royce et al., 1991).

Des del mesencèfal s'han identificat aferències cap al nucli PF o complex CM-PF dels col·licles superiors, la substància grisa periacuaductal, el preteetum i la substància negra reticular (SNR)(Carstens et al., 1990; Cebrian et al., 2005; Ordres i Snow, 1981; Cornwall i Phillipson, 1988; Finkelstein et al., 1996; Grunberg i Krauthamer, 1992; Kobayashi i Nakamura, 2003; Krauthamer et al., 1992; Parent et al., 1995; Tsumori et al., 2000; Tsumori et al., 2002; Royce et al., 1991). A més, en rates i gats el nucli PF rep informació des de la formació reticular mesencefàlica i dels nuclis cuneïformes (Krout et al., 2002; Royce et al., 1991).

De la protuberància, el nucli PF en rates i gats, rep projeccions des dels nuclis dorsal lateral (LTD) de la protuberància, del parabraquial, el peduncle pòntic tegmental (PPTg), el nuclidorsal del rafe (RD), l'àrea subcoeruleus i el nuclis trigeminals (Capozzo et al., 2003; Grunberg et al., 1992; Kobayashi i Nakamura, 2003; Krout et al., 2002; Krout i Loewy, 2000; Marini i Tredici, 1995; Sim i Joseph, 1992; Vertes, 1991; Zhang et al., 1992). En la rata, s'han descrit també aferències des del nucli subpeduncular (Cornwall i Phillipson, 1988).

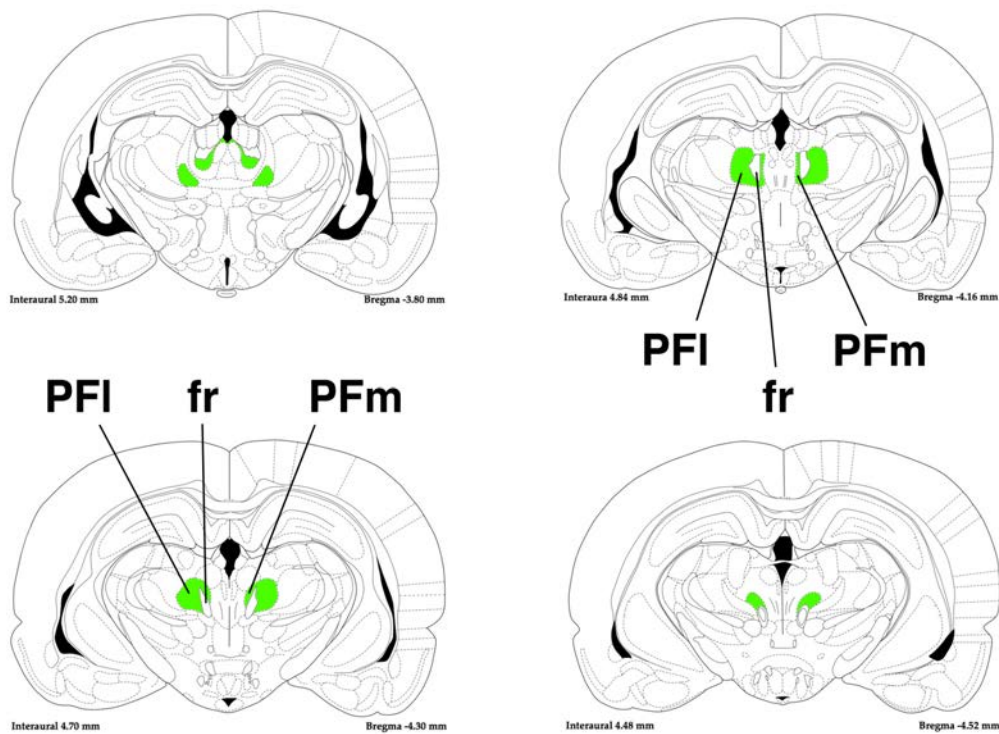
A nivell del bulb raquidi, el nucli vestibular envia projeccions al nucli PF de la rata, al nucli CM del primat i al complex CM-PF del gat (Ordres i Snow, 1981; Cornwall i Phillipson, 1988; Krout et al., 2002; Royce et al., 1991; Shiroyama et al., 1995). Finalment, el nucli PF de la rata rep informació des de diferents nuclis del cerebel com el medial o fastigial, el cervical lateral i els interpositius (Cornwall i Phillipson; 1988; Krout et al., 2002).

Anteriorment, resultava difícil identificar l'abast i la distribució de les fibres talamocorticals, llavors es considerava als nuclis intralaminars com un grup de nuclis poc específics. No obstant, nous estudis amb marcadors van permetre l'estudi detallat sobre les eferències corticals dels nuclis intralaminars del tàlem, trobant projeccions a la part dorsal de l'escorça cerebral, especialment en les regions frontal i parietal. Així les principals eferències des del nucli PF són glutamatèrgiques i es dirigeixen a l'escorça prefrontal infralímbica (CIL) i prelímbica (CPL o Cg3) i parietal de forma important, i en menor grau a l'escorça occipital, temporal i adjacents insular, entorrinal i cingulada anterior (Quiroz-Padilla et al., 2010).

Les eferències del nuclis intralaminars posteriors del tàlem (ILp), inclòs el nucli CM-PF, també arriben en gran mesura al cos estriat mitjançant neurones multipolars de mida mitjana, que s'estructuren com vies de forma circular (IL-ganglis basals, ganglis basals – IL)(Rodríguez-Sabate et al., 2015; Eckert et al., 2012). Estudis en rates (Doig et al., 2014; Lacey i col., 2007; Nanda et al., 2009) identifiquen el nucli PF com la major font d'inputs glutamatèrgics dirigits a l'estriat, formant sinapsis directes amb neurones de projecció i sinapsis asimètriques amb interneurons colinèrgiques.

Altres estudis, també en rates, mostren evidències de projeccions ipsilaterals del nucli PF cap al globus pàl·lid (GP)(Yasukawa et al., 2004), i investigacions posteriors (Kita et al., 2016) indiquen que les projeccions principals del PF es dirigeixen al nucli subtalàmic, a través del qual el PF controlaria la funció dels ganglis basals. El PF també projecta a la zona incerta (ZI), però de manera més dispersa. El CM, en canvi té una projecció escassa al nucli subtalàmic. Smith i col·laboradors (2004) identifiquen projeccions diferenciades cap als ganglis basals en funció de la subregió del nucli PF: el nucli PF lateral projecta al nucli putamen, al GP lateral i difusament al límit dorsolateral del caudat (àrees relacionades amb funció senso-motora), i el PF medial envia eferències al caudat i putamen (CPu), GP ventral i en menor proporció al nucli accumbens, facilitat per el òxid nítric (NO)(Kraus et al., 2014), i al tubercle olfactiu (àrees associatives límbiques).

Per altra banda, el PF medial també projecta a l'amígdala (veure revisió de Macchi i Bentivoglio, 1986) i a la formació hipocampal (Berendse i Groenewegen, 1991). Alguns treballs han trobat eferències del tipus inhibitori des del PF lateral que s'envien a la majoria dels nuclis del Rafe (menys el nucli pàl·lid del bulb), nuclis pontins, el complex trigeminal, el nucli del tracte solitari i a l'oliva inferior (Marini et al., 1999). Finalment, també s'han trobat eferències del PF al estómac i al recte, a través del nervi vague, després de contrastar que sovint els atacs epilèptics venen acompanyats d'alteracions de les funcions gastrointestinals (Feng et al., 2016). Mitjançant l'electroestimulació intracraneal (EIC) sobre el nucli PF, i duent a terme un senzill procés immunohistoquímic per detectar l'expressió de la proteïna C-Fos en regions diana del PF també s'ha pogut reconèixer eferències procedents del PF dirigides al nucli reticular talàmic (NRT) i al nucli genigulat ventrolateral (NGVL) (Kolmac i Mitrofanis, 2001).



**FIGURA 2.** Esquemes de quatre seccions coronals del cervell de rata amb el nucli PF indicat en color verd.

Les projeccions contra laterals del nucli PF es dirigeixen principalment a l'escorça cerebral, a l'estriat, al nucli subtalàmic (NTS), al nucli reticular talàmic, al globus pàl·lid, al col·licle superior (CS), i al nucli entopeduncular (Cesaro et al., 1985; Deschenes et al., 1996; Yasukawa et al., 2004). Morfològicament, aquestes neurones són majoritàriament multipolars i de mida mitjana, amb un cos en forma poligonal o ovoide d'aproximadament 20-25µm de diàmetre, del qual emergeixen de tres a set dendrites que poden assolir una mida de gairebé 1,5mm. Aquestes cèl·lules es caracteritzen per establir sinapsis amb dendrites o espines dendrítiques, heterogeneïtat sinàptica que encara no està del tot clara (Lacey et al., 2007). Els axons, tant ipsilaterals com contra laterals, presenten un alta densitat de varicositats i els botons terminals d'un diàmetre aproximat de 0,5-2µm (Deschenes et al., 1996; Vercelli et al, 2003). En el cas dels primats, el complex CM-PF té diferents subpoblacions neuronals que projecten a zones cerebrals de forma específica (Parent i Parent, 2005).

Els nuclis intralaminars, i els nuclis PF en particular, abarquen un ampli ventall de sistemes de neurotransmissió. En aquest sentit, s'han trobat eferències d'origen colinèrgic al nucli PF i són varis els autors que han descrit la naturalesa colinèrgica de les projeccions de la via CM-PF-estriat (Woolf i Butcher, 1986). Per altra banda, el glutamat és un dels neurotransmissors més presents en les projeccions del PF. De fet, múltiples estudis suggereixen al Glu com el neurotransmissor utilitzat per pràcticament totes les neurones

del PF (Mouroux et al., 1995). Entre tots els tipus d'aferències que reben els IL, les de tipus glutamatèrgic destaquen pel seu paper crític en gran varietat de funcions. Recentment, Yasuda et al. (2017) han comprovat com tractaments antagonistes dels receptors NMDA o soques de ratolins sense expressió d'aquests receptors en els IL donen com a resultat símptomes similars a l'esquizofrènia, així com alteracions en memòria de treball, memòria espacial al llarg termini, atenció, impulsivitat, bloqueig de la inhibició del prepuls, hiperlocomoció, hiperarousal o reducció de la potència de les ones alpha, beta i gamma. No obstant, aquests resultats són deguts a les múltiples eferències del complex IL, ja que aquests petits nuclis actuarien com estacions de relleu, innervant en multitud d'estructures subcorticals o corticals.

Les neurones del complex CM-PF en primats, es caracteritzen per la seva intensa resposta als estímuls sensorials multimodals i a la naturalesa condicional d'aquestes respostes (Yamanaka et al., 2017). Per exemple, sons breus (*click*) semblen evocar una activació fàscica de les neurones CM-PF a curtes latències (al voltant de 25ms, neurones SLF) o en latències llargues (al voltant de 230ms, neurones LLF)(Matsumoto et al., 2001; Minamimoto i Kimura, 2002). Les neurones SLF es localitzen principalment en el nucli PF, principal origen de les projeccions al nucli caudat i el nucli putamen rostral, mentre que les neurones LLF es troben predominantment al CM, l'origen principal de la projecció talamoestriada al putamen (Matsumoto et al., 2001; Smith et al., 2004; Glimcher i Lau, 2005; Yamanaka et al., 2017).

## 2. Relacions funcionals: funcions cognitives

El tàlem, i els nuclis intralaminars en particular, disposen de connexions bidireccionals amb l'escorça cerebral, formant part del sistema reticular ascendent i el sistema dels ganglis basals-tàlem-cortical. Aquests circuits semblen tenir com a funció bàsica la generació i manteniment de l'arousal necessari en els diferents estats de consciència i els processos cognitius (Långsjö et al., 2016; Varela, 2014), així com reaccionar activament davant dels estímuls destacats (Schepers et al., 2017).

Diversos estudis han demostrat que el tàlem central, que comprèn també les nuclis intralaminars posteriors, és una zona crítica capaç d'exercir una modulació comportamental mitjançant les seves connexions amb l'escorça prefrontal i el nucli estriat en resposta a demandes cognitives (Schiff, 2016; Mair et al., 2011). El control endogen de l'activació del tàlem central en resposta a aquestes demandes cognitives es realitzaria des de l'escorça frontal medial (Narayanan et al., 2013; Narayanan i Laubach, 2009), essent modulada addicionalment per l'àmplia gama de sistemes d'activació del tronc de l'encèfal (Steriade et al., 1997). De fet, ja fa temps que es disposa d'evidències experimentals en animals que mostren la participació dels nuclis IL del tàlem en els estats d'alerta o arousal. En un estudi (Mancia i Marini, 1995) d'estimulació intracraneal (EIC) del nucli CM dels gats, es va

observar la inducció d'estats d'arousal, comprovat pel registre d'una alta activació cortical, moviments oculars i espasmes mioelòncics. En altres experiments (Shirvalkar et al., 2006) es va observar que l'EIC del nucli CL de la rata, aplicada durant l'entrenament d'una tasca de reconeixement d'objectes, incrementava la memòria avaluada i l'expressió dels gens c-fos i zif268 en àmplies regions corticals. Els autors van suggerir que la facilitació de la tasca seria resultat d'un increment de l'activació cortical generalitzada que milloraria el processament de la informació. En canvi, les lesions unilaterals o bilaterals dels nuclis IL, inclòs el complex CM-PF, produeixen letargia, somnolència i un ampli deteriorament cognitiu (Steriade, 1996). En conseqüència, s'ha proposat que disfuncions anatòmiques o funcionals de les connexions tàlamocorticals, facilitarien canvis de consciència entre el coma l'anestèsia i el son (Picchioni et al., 2014). En aquesta línia, s'ha pogut comprovar com l'estimulació del nucli PF millora el nivell de consciència després d'atacs convulsius propis de l'epilepsia (Chen et al., 2016) o en trastorns de consciència (Schiff et al., 2009). S'ha proposat que les neurones del nucli PD o complex CM-PF poden influir en els processos d'activació cerebral mitjançant la sincronització cortical d'ones theta. De fet, la descàrrega a altes freqüències de les neurones dels nuclis intralaminars facilitaria la resposta de les neurones piramidals i la coherència oscil·latria que permet la integració d'informació (Jones, 2009). De forma congruent, altres estudis (Marini et al., 1998) van demostrar que la lesió unilateral o bilateral amb àcid ibotènic del nucli PF de la rata suprimia el ritme d'ones theta de la neocorça. Així mateix, mitjançant lesions excitotòxiques dels nuclis IL, nucli PF inclòs, rates sotmeses a tasques d'atenció sostinguda van mostrar latències de resposta molt prolongades quan el temps d'exposició de l'estímul era breu (Burk i Mair, 2001). De fet, es té constància que tant els nuclis IL rostrals (CI i PC) com els posteriors (CM-PF) s'activen en períodes de canvi atencional (Kinomura et al., 1996) i en tasques encobertes d'atenció visual (Hulme et al., 2010; Paus et al., 1997).

Estudis en primats no-humans suggereixen també un paper del complex CM-PF en l'orientació atencional (Minamimoto i Kimura, 2002) i en el processament d'estímuls de diferents modalitats sensorials conductualment rellevants (Matsumoto et al., 2001; Minamimoto et al., 2014; Minamimoto et al., 2005). En ratolins, la interrupció de la via de la PF per al nucli estriat dorsolateral condueix a una disminució de la resposta apropiada en una tasca de temps de reacció (Kato et al., 2011). En rates, s'ha observat de manera similar que una desconexió funcional de la via PF-estriat dorsomedial produeix un deteriorament específic en la capacitat d'alterar les accions dirigides a objectius (Bradfield et al., 2013; Bradfield i Balleine, 2017). Altres estudis clínics han relacionat el trastorn de negligència talàmica amb lesions del complex CM-PF donat que aquestes lesions indueixen pèrdua de l'estat de consciència necessari per a la realització de tasques d'orientació visuoespacial (Watson et al., 1979, 1981).

Estudis en humans mitjançant l'ús d'estimulació cerebral profunda (DBS) han permès diferenciar la funcionalitat del CM i el PF. En ambdós casos la DBS

evidència un paper inhibitor d'aquestes estructures sobre el processament sensoriomotor i emocional, no obstant els efectes de la DBS sobre el CM són prominentment sensoriomotors/associatius, en canvi el mateix tractament sobre el PF té efectes límbic/associatius més clars (Kim et al., 2013). Aquest paper modulador del PF, degut a la seva estratègica situació com a estructura de relleu d'informació, també pren protagonisme en estudis en rates, en els que s'ha pogut constatar la regulació del estatus locomotor que exerceix aquest nucli (Barroso-Chinea et al., 2011; Alan et al., 2014). El PF esdevé clau en el àmbit motor, fins el punt en que la seva disfunció pot contribuir al deteriorament de la patofisiologia del dèficit motor en la malaltia de Parkinson (Wang et al., 2016), no en va la pèrdua neuronal del sistema tàlamo-estriatal, en el que el CM és clau, podria precedir el desenvolupament de símptomes motor, i cognitius en aquesta malaltia (Villalba et al., 2014). El CM-PF també ha mostrat estar implicat en al patofisiologia de la distonia cervical (Semenova et al., 2016) i alguns estudis també han identificat cèl·lules en el nucli PF dedicades al relleu de la informació nociocèptica (Wang i Guo, 2009; Gao et al., 2012; Harte et al., 2011; Chen et al., 2016).

Evidències anatòmiques i fisiològiques indiquen, que també en primats, els circuits neuronals del CM-PF són importants per l'aprenentatge associatiu i contextual, rebent informació sobre els estímuls sensorials i essent especialment sensible a esdeveniments inesperats (Saund et al., 2017). Estudis conductuals que han investigat l'efecte de diversos tipus de lesions (electrolítiques o químiques) o de tractaments d'EIC del nucli PF sobre l'aprenentatge i la memòria en varies tasques suggereixen la relació d'aquest nucli amb funcions cognitives (veure revisió Quiroz-Padilla et al., 2010). D'aquesta manera, s'ha pogut comprovar com l'aprenentatge invertit en laberint en T, el condicionament d'una resposta reflexa de fugida en laberint en T, l'evitació activa de dos sentits (EV2) i l'evitació de salt queden deteriorats en els procediments d'adquisició i retenció a causa de les lesions esmentades del nucli PF. Per altra banda, estudis realitzats amb lesions inespecífiques dels nuclis intralaminars (inclòs el nucli PF), mostren com els procediments d'adquisició i retenció queden alterats en els models de memòria declarativa en rates com l'aparellament retardat a la posició, el no aparellament retardat a la posició i el laberint radial. L'ús de lesions específiques amb N-metil-D-aspartat (NMDA), ha permès precisar la participació del PF en les funcions cognitives (Quiroz-Padilla et al., 2006 i 2007). Així s'ha vist que la lesió química del PF deteriorava l'aprenentatge i retenció de tasques de memòria implícita com l'EV2 i la Discriminació Simple d'Olors (DSO); així com s'impedia també la memòria relacional associada a la transmissió social de preferència alimentària (TSPA). La implicació del PF en la memòria relacional de tipus no-espacial també s'ha estudiat, descobrint que les lesions d'aquests nuclis dificulten la retenció de l'associació en una tasca de reconeixement espontani d'objectes (Castiblanco-Piñeros et al., 2011). Sense necessitat de generar lesions, Brown i col·laboradors (2010) arriben a comprovar com la inactivació temporal del nucli PF, a través d'agonistes del GABA (muscimol i baclofen),

pot modular l'alliberació d'acetilcolina en el nucli estriat en condicions que exigeixen flexibilitat comportamental. Kato i col·laboradors (2011), arriben a la mateixa conclusió. Una de les funcionalitats cognitives més interessants del CM-PF consisteix en senyalar el contrast entre el biaix intern propi de la pre-acció i la demanda externa, i mediar en el procés de contrarestar-reajustar el biaix conductual i conduir l'execució de l'acció oposada (Minamimoto et al., 2014). En altres paraules, el CM-PF proporciona les condicions cognitives-reflexives òptimes per inhibir la resposta mecanitzada, especialment quan la recompensa és baixa i el cost personal no compensa l'esforç de l'acció. Per tant es tracta d'inhibir l'impuls del comportament contraproduent. Parlem llavors de la essència de la flexibilitat cognitiva, una característica crítica per el bon rendiment en tasques de condicionament instrumental, en les que l'atenció i la percepció pren especial rellevància. Estudis anteriors ja indicaven que el PF tot i no ser imprescindible per l'adquisició o l'execució de comportaments instrumentals, juga un paper específic en la regulació de la flexibilitat d'acció quan les contingències canvien (Bradfield et al., 2013), doncs la seva activitat millora la fluïdesa de l'acetilcolina en el nucli posterior dorsomedial del estriat (pDMS). La relació entre el PF i el pDMS està lateralitzada, ja que impedit l'acció de les estructures d'un sol hemisferi les rates tractades rendien igual que les rates control, en canvi les rates amb lesions de PF i pDMS contra laterals veien la seva flexibilitat cognitiva significativament minvada i de manera similar a les rates amb lesions bilaterals del PF i el pDMS. Així doncs, el control del PF sobre el pDMS codifica el model d'aprenentatge d'errors al llarg dels assajos i permet reduir el comportament après en contingències anteriors, ja caduques (flexibilitat cognitiva). Ding et al. (2010) relaciona l'input excitador procedent del nucli PF vers el cos estriat com la raó principal del seu paper en canvis atencionals.

Aquesta proposta de participació del PF en sistemes atencionals i de flexibilitat conductual vindria reforçada per les connexions existents entre el CM-PF i les escorces motora i premotora i altres àrees corticals relacionades amb sistemes atencionals com el camp visual frontal, l'escorça prefrontal i l'escorça cingulada anterior (Sadikot i Rymar, 2009; Schepers et al., 2017). A més a més, donat que el nucli PF rep informació sobre els esdeveniments ambientals a través de canals sensorials multimodals, la seva capacitat de modulació d'estructures crítiques implicades en funcions cognitives és molt àmplia.

Les investigacions que es duen a terme amb tècniques d'EIC també han recolzat el paper del nucli PF en els processos d'aprenentatge i memòria. L'EIC del nucli PF no només ha demostrat la participació d'aquest nucli en la retenció a curt i llarg termini de tasques com les d'EV2 (Vale-Martinez et al., 1998; Sos-Hinojosa et al., 2000), sinó que també ha permès identificar un cert caràcter heterogeni entre les diferents parts anatòmiques del nucli (Vale-Martinez et al., 1998; Guillazo-Blanch et al., 1999). Finalment, l'EIC del nucli PF també s'ha mostrat capaç de revertir els efectes deteriorants de lesions del nucli basal magnocel·lular (NBM) sobre l'EV2; així, rates amb lesions



d'aquest nucli que rebien EIC sobre el nucli PF no mostraven el dèficit de memòria esperat (Sos-Hinojosa et al., 2003).

Així doncs, els indicis recollits al llarg d'anys d'investigacions ens ofereixen un esbós de les implicacions del nucli PF en diferents funcions cognitives. S'ha suggerit que les seves relacions funcionals amb sistemes i/o estructures clau en els processos d'atenció, aprenentatge i memòria, com el sistema dels ganglis basals-talamocortical; així com el seu paper modulador de l'arousal cortical, contribuirien de forma decisiva a explicar la seva participació en les esmentades funcions (Quiroz-Padilla et al., 2010).

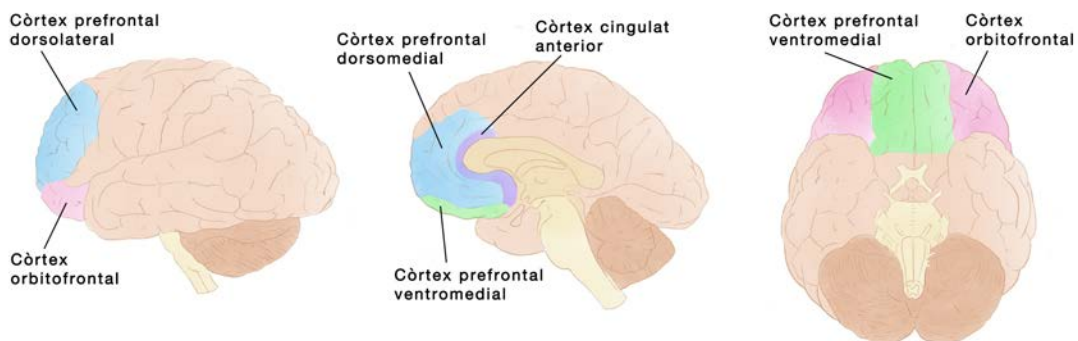
A nivell clínic s'ha estudiat en diversos treballs l'ús d'estimulació cerebral profunda (DBS) com a tractament sobre el CM-PF. En l'àmbit cognitiu, la DBS sobre el PF és capaç de restaurar l'excitació i la consciència, les quals són importants en tasques en les que es troben implicades l'atenció, l'aprenentatge i la memòria (Fernández-Cabrera et al., 2017). En el mateix treball es va constatar una disminució del gen de la subunitat GluN1 dels rNMDA en el cingulat i l'escorça prelímbica, però cap canvi en la densitat de receptors NMDA o GABA<sub>B</sub>. Per altra banda, també es plantegen estudis d'estimulació del CM-PF per tractar el síndrome de Tourette i l'epilèpsia, atenent a la literatura que indica la implicació dels nuclis intralaminars en el control motor. L'estimulació de CM-PF redueix l'activitat dels circuits dorsals (circuit motors, a través del CM) i ventrals (circuit límbics via PF), modulant la transmissió de relleu del tàlem entre els ganglis basals i el còrtex (Picillo et al., 2017). En aquest sentit, s'ha pogut comprovar el beneficiós efecte del tractament DBS sobre el CM-PF en pacients amb síndrome de Tourette (Testini et al., 2016a, 2016b), i en epilèpsia refractària (Lehtimäki et al., 2017), però sense efectes sobre la epilèpsia resistent procedent del rar trastorn genètic anomenat síndrome del anell 20 (Arévalo-Sáenz et al. 2015).

## (b) El còrtex prefrontal

## 1. Neuroanatomia i neuroquímica

El còrtex prefrontal (CPF) s'ha definit tradicionalment com la part del lòbul frontal que rep la majoria de les projeccions del nucli mitjà del tàlem (MD) (Rose i Woolsey, 1948). En humans el CPF representa el 30% de tota l'escorça del cervell i és l'àrea amb un desenvolupament ontogenètic i una mielinització més tardana.

Un dels majors obstacles en la investigació de la neuroanatomia del CPF és delimitar les regions equivalents entre les diferents espècies. Aquest problema rau principalment en la gran variabilitat anatòmica que mostra aquesta regió cortical, tant en termes de citoarquitectura com de connectivitat neural (Fuster, 1997; Groenewegen i Uylings, 2000). El CPF es pot dividir en quatre grans regions: la dorsolateral, l'orbitofrontal, la ventromedial i la cingulada anterior (Fig. 3); no obstant en primats no humans, es divideix en dues parts: l'orbitomedial i la dorsolateral (Fuster, 2000). En canvi, en rates, en el CPF es distingeixen tres regions: la lateral, la ventral i la medial (CPFm). Aquesta última també es pot subdividir en cinc regions (de dorsal a ventral): el còrtex precentral, el còrtex cingulat anterior, l'escorça prelímbica (CPL), el còrtex infralímbic (CIL) i el còrtex orbital medial. El CPL és considerat l'àrea homòloga a l'escorça prefrontal dorsolateral d'humans i primats no humans, encarregada principalment de funcions executives (Grañon et al. 1998; Vertes 2004).



**FIGURA 3.** Esquemes anatòmics simplificats del cervell humà i localització de les diferents regions del còrtex prefrontal.

Les capes més superficials del CPFm de la rata es localitzen a la regió més propera a la línia mitjana del cervell, mentre que les capes profundes es situen de manera més lateral respecte a les primeres. Els criteris citoarquitectònics per a la CPF que es van establir en primats contemplen l'existència d'una capa IV definida com "granular", a causa de la presència de cèl·lules granulars, que diferencia la CPF d'altres escorces properes, que no disposant d'aquesta capa, són considerades "agranulars". Però el problema és que en rates, i en la majoria d'espècies no primats, no es troba

aquesta capa IV granular en cap de les àrees corticals que pertanyen a la CPF (Pandya i Yeterian, 1990); això dificulta la recerca de l'homologia d'aquesta regió entre espècies. A més, en rates la diferenciació entre les cinc capes corticals restants és complicada degut al grau d'empaquetament de la zona pròxima a la línia mitjana del cervell. De fet, a la CPF de la rata es distingeixen només quatre capes: I, II/III, V i VI. La capa I és la més fàcil de delimitar perquè no conté neurones piramidals (McCormick et al., 1985). El cos de les neurones piramidals es localitza principalment en les capes II/III (piràmides petites), V (piràmides grans) i VI. Les dendrites apicals de les neurones piramidals s'estenen perpendicularment a la línia mitjana per acabar la capa I.

Les neurones piramidals són la població neuronal majoritària a la CPF (al voltant d'un 75-80% del total) i són glutamatèrgiques. Gràcies a la seva dendrita apical, aquestes neurones tenen la capacitat de captar la informació que arriba a través de les diferents capes corticals i, un cop integrada, emetre un impuls elèctric cap a les àrees de projecció. Hi ha una certa especificitat laminar en el tipus de projeccions de la CPF: les neurones piramidals de les capes II/III tendeixen a projectar cap a altres àrees de l'escorça, les de la capa VI vers al tàlem i algunes zones corticals, i són principalment les neurones piramidals de la capa V les que canalitzen el senyal de sortida a la multitud d'estructures piramidals, trobem una altra població neuronal: les interneurons GABAèrgiques. Aquestes interneurons inhibidores representen el 15-20% de la població neuronal de l'escorça i estan localitzades homogèniament en totes les capes corticals, inclosa la capa I (Beaulieu, 1993; DeFelipe, 2002; Somogy et al., 1998). En general, aquestes cèl·lules neuronals es troben organitzades en microcircuitos múltiples i repetitius que inclouen les neurones piramidals i les seves connexions aferents i eferents. Les entrades provenen de les cèl·lules espinoses excitadores i de les interneurons GABAèrgiques inhibidores, les quals estan interconnectades entre elles. Aquest reduït circuit es repeteix en cada capa cel·lular, coordinant-se en paral·lel amb els circuits adjacents (DeFelipe 2002).

Per altra banda, el CPF té una complexa connectivitat amb moltes estructures corticals i subcorticals, desenvolupant així funcionalitat en diversos processos cognitius, actuant com una escorça associativa que entrellaça informació sensorial, motora, cognitiva, emocional i autònoma (Gabbott et al. 2005; Heidbreder i Groenewegen 2003; Vertes 2004), doncs el CPL representa una de les majors àrees de projecció colinèrgica del Prosencèfal Basal (PB) (Gaykema et al. 1990; Saper 1984; Van Eden et al. 1992), i té connexions recíproques amb estructures olfactòries (Berendse et al. 1992; Datiche & Cattarelli 1996, Neafsey et al. 1986), el tàlem, la formació hipocàmpal, amb l'amígdala (Carr & Sesack 1996; Gabbott et al. 2002; McDonald 1987; McDonald 1991) i amb nuclis del tronc de l'encèfal (Vertes 2004).

Com s'ha comentat anteriorment, el CPF s'ha definit tradicionalment com la part del lòbul frontal que rep la majoria de projeccions des del nucli MD del tàlem (Fuster, 1997; Rose i Woolsey, 1948). Més recentment, s'ha demostrat que el nucli MD del tàlem també projecta a altres zones frontals més posteriors, de manera que el criteri suggerit inicialment per Rose i Woolsey (1948) no és un criteri inequívoc per definir el CPF. Encara que sí que és cert que les connexions recíproques més importants d'aquest nucli talàmic s'estableixen amb el CPF. A més, s'han descrit nombroses connexions recíproques i organitzades topogràficament entre el CPFm i altres nuclis del tàlem, com els nuclis de la línia mitja, el nucli anteromedial, el nucli paraventricular, el nucli paratenial i els nuclis intralaminars (Hsu i Price, 2007). S'han descrit també aferències menys denses del nucli dorsolateral, del nucli lateral posterior, del nucli retícular i del nucli ventromedial (Ferino et al., 1987; Ferron et al., 1984; Groenewegen, 1988; Hurley et al., 1991; Krettek i Price, 1977; Ray i Price, 1992; Sesack et al., 1989; Vertes, 2002).

El CPL és una de les principals regions de projecció colinèrgica del prosencèfal basal (PB), especialment del nucli basal magnocel·lular (NBM) i la branca horitzontal de la banda diagonal de Broca (BDBh) (Gaykema et al., 1990; Saper, 1984; Van Eden et al., 1992; Woolf, 1991). D'altres regions corticals, el CPL rep projeccions principalment de l'escorça piriforme, així com diversos inputs d'àrees sensorials com l'escorça visual secundària i l'escorça retrospinal (Condé et al., 1995; Datiche i Cattarelli, 1996; Reep i Winans, 1982; Van Eden et al., 1992). A més, al CPL també arriben inputs d'estructures olfactòries com el bulb olfatori, el nucli olfatori anterior i les capes més superficials del tubercle olfatori (Berendse et al., 1992; Datiche i Cattarelli, 1996; Neafsey et al., 1986). Del sistema límbic, el CPL rep aferències tant de la formació hipocampal com l'amígdala. De la formació hipocampal, les projeccions deriven principalment del subículum (SUB) i de la regió CA1 ventral, i són connexions pràcticament unidireccionals (Carr i Sesack, 1996; Gabbot et al., 2002; Jay i Witter, 1991; Swanson, 1981). Pel que fa a les projeccions de l'amígdala, aquestes emergeixen principalment de la part cabal del complex amigdalí basal, i amb menor importància, del nucli lateral de l'amígdala (LA) i de l'escorça periamigdalina (Krettek i Price, 1977; McDonald, 1987; McDonald, 1991). D'altra banda, les projeccions cap al CPL des del estriat s'originen en el nucli accumbens i arriben a través del tàlem per una via palidotalàmicocortical (Groenewegen et al., 1999; Zahm, 1999, Zahm i Brog, 1992), i respecte a les aferències hipotalàmiques, es deriven de diferents tipus cel·lulars i arriben directament al CPL i a tot el CPFm (Jacobson et al., 1978; Ray i Price, 1993; Saper, 1985). Finalment, el CPL rep inputs del tronc de l'encèfal, especialment dels nuclis del rafe, del locus coeruleus i de l'àrea tefmental ventral, així com del col·licle superior, de la substància grisa periacuaductal, del nucli peribraquial, del nucli ambigu, del nucli del tracte solitari, del nucli pontí, del nucli pretectal anterior i del tegmentum mesencefàlic (Floyd et al., 2000; Hurley et al., 1991; Neafsey et al., 1986; Reep et al., 1987; Sesack et al., 1989; Van Eden i Buijs, 2000).

Gran part de les connexions amb el tàlem són recíproques, de manera que, alhora que rep fortes aferències del nucli MD del tàlem, també projecta cap al mateix, així com cap a altres nuclis del tàlem, com els nuclis IL, els nuclis de la línia mitjana i, encara que no d'una forma tan marcada, sobre el anteromedial i el central medial i lateral (Vertes, 2004). Pel que fa a les projeccions corticals, el CPL envia informació directament a tota la CPFm, al solc rínal, a l'escorça agranular posterior, l'escorça entorrínica i a la perirrínica. La part més dorsal del CPL també projecta a àrees sensoriomotors de les regions frontals i parietals, i la part més ventral projecta a l'escorça piriforme. A més, i d'una forma més moderada, el CPL envia projeccions a l'àrea premotora FR2 i a les àrees cinguladas cabals (Heidbreder i Groenewegen, 2003). A part de l'escorça piriforme, el CPL projecta sobre altres estructures olfactòries com el nucli olfatori anterior (parts medial i ventral) i el tubercle olfatori (Vertes, 2004).

Pel que fa a les estructures colinèrgiques, tot i que l'escorça rep fortes projeccions procedents del PB, són poques les eferències que retornen de la CPL. Tot i així s'han descrit projeccions, tot i que febles, sobre el septum lateral, sobre la BDBh, sobre el nucli preòptic medial i sobre la substància innominata (Gaykema et al., 1991; Room et al., 1985; Sesack et al., 1989; Vertes, 2004). D'altra banda, i tot i que l'escorça no projecta directament sobre l'hipocamp (HPC), sí que intervé d'una manera indirecta a través de l'escorça entorrínica a través d'altres estructures diencefàliques, a més de projectar directament sobre l'escorça parahipocampal (Carr i Sesack, 1996; Gabbot et al., 2002; Jay i Witter, 1991; Swanson, 1981). Les connexions amb el complex amigdalí sí que són bidireccionals, i el CPL envia importants eferències cap al nucli central (CEA), cap al nucli basolateral (BLA), cap al nucli basal accessori i cap al nucli lateral de l'amígdala (Hurley et al., 1991; McDonald, 1998; McDonald et al., 1996; Vertes, 2004). Cap a l'estriat, les principals eferències del CPL es dirigeixen als nuclis caudat i putamen en les seves zones medial i ventromedial, al nucli accumbens (parts *core* i *shell*) i a la part medial del nucli subtalàmic (Berendse et al., 1992; Ding et al., 2001; Donoghue i Herkenham, 1986). També s'han trobat fibres menys denses cap a la substància negra pars reticulata i a zones del pà·lid. Les eferències sobre l'hipotàlem es centren en el nucli dorsomedial, lateral, paraventricular, nucli supramamilar, dorsal, àrea perifornical i al nucli posterior (Floyd et al., 2001; Van Eden i Buijs, 2000; Vertes, 2004). Finalment, les eferències principals del CPL sobre el tronc de l'encèfal inclouen projeccions sobre els nuclis del rafe, la substància grisa periacuaductal, l'àrea tegmental ventral, el nucli supralemniscal i el nucli incertus (Vertes, 2004).

La composició neuroquímica de el CPL és també complexa. Com s'ha comentat anteriorment, el CPL rep la major part dels inputs colinèrgics dels nuclis del PB com el NBM i de la banda diagonal de Broca, i també rep de grups cel·lulars del tegmentum dorsolateral del tronc de l'encèfal. Així mateix, el CPL rep aferències probablement glutamatèrgiques del neostriat i del nucli accumbens, a part d'inputs de diferents neurones de l'hipotàlem que contenen histamina i melanocortina. Del tronc de l'encèfal, el CPL, com

la resta de l'escorça, rep també aferències dopaminèrgiques i GABAèrgiques de l'àrea tegmental ventral, serotoninèrgiques dels nuclis del rafe i noradrenèrgiques del *locus coeruleus* (Berger et al., 1991; Carr i Sesack, 2000; Gaykema et al., 1990; Saper, 1984; 1985; Satoh i Fibiger, 1986; Van Eden i Buijs, 2000; Woolf, 1991).

En resum, el CPL és una regió molt complexa respecte a la seva morfologia, a les seves connexions i a la seva composició neuroquímica. Anatòmicament és una regió que presenta grans diferències entre espècies, la qual cosa dificulta el seu estudi. El CPL estableix nombroses connexions, sent especialment rellevants les del tàlem, el PB, el sistema límbic i altres regions corticals. D'estructures subcorticals, rep importants inputs monoaminèrgics i colinèrgics que contribueixen a la diversitat de les seves funcions. Tota aquesta complexitat explica la seva relació amb gran varietat de processos cognitius com la memòria de treball, la flexibilitat conductual, o els processos atencional. (Fuster, 1997; 2001).

## 2. Relacions funcionals: funcions cognitives

Degut a la densa y variada connectivitat del CPF, aquesta estructura està relacionada estretament amb el funcionament de capacitats cognitives com la memòria i funcions executives (Taules 1 i 2). Així doncs, s'ha pogut dur a terme estudis de lesió del CPF que resulten deteriorar la consolidació de la memòria a llarg termini (Laroche et al. 2000), la memòria de treball, la flexibilitat cognitiva, la inhibició conductual, la detecció de contingències i els processos atencional (Brito i Brito 1990; Delatour i Gisquet-Verrier 1996; Jinks i McGregor 1997; Killcross i Coutureau 2003; Passetti et al. 2002; 2003; Taylor et al. 2003). En aquesta línia, la disfunció en el CPF també provoca trastorns neuropsiquiàtrics com dèficit d'atenció i hiperactivitat, l'esquizofrènia, l'ansietat i la malaltia d'Alzheimer (Dalley et al. 2004; Schroeter et al. 2012). També els tractaments basats en antagonistes dels receptors NMDA bloquegen de forma significativa la funcionalitat del CPF, doncs es tracta d'una regió de transmissió principalment glutamatèrgica (Roberts et al. 2010; Wang et al. 2013; Van Windbergen et al. 2012; Moghaddam i Jackson 2003; Akirav i Maroun 2006; Takehara-Nishiuchi et al. 2005). Després del descobriment que el fàrmac psicotròpic, fenciclidina (PCP), podria produir símptomes de tipus psicòtic en subjectes sans i exacerbació d'aquests símptomes en pacients amb esquizofrènia, la importància de les deficiències en la transmissió de NMDA per a la funció prefrontal i els processos cognitius va quedar palesa (Arnsten i Wang, 2016).

Al CPL se li ha atribuït un paper important en tasques que avaluen la memòria de treball (MT) (Brito i Brito, 1990; Brito et al., 1982; Funahashi, 2017). La MT é un tipus de memòria temporal que permet mantenir activa la informació ja processada en la memòria a curt termini, mentre s'elabora nova informació rellevant de la tasca alhora que es recupera informació de la memòria a llarg termini. Lesions o manipulacions farmacològiques

circumscribides a aquesta regió afecten paradigmes de resposta demorada, com l'alternança demorada espacial (Brito i Brito, 1990; Delatour i Gisquet-Verrier, 1996; Kesner, 2000; Kolb, 1990; Larsen i Divac, 1978; Taylos et al., 1999; 2003; van Haaren et al., 1985; Zahrt et al., 1997) i el no aparellament o aparellament demorat amb la mostra o amb la posició (Aggleton et al., 1995; Broersen et al., 1994; Chudasama i Muir, 1997; Grañón et al., 1994; Joel et al., 1997a; Kesner, 2000; Kolb, 1990). Així, per exemple, s'ha vist que una lesió a la CPL, que al principi no deteriora una tasca de no aparellament demorat amb la posició, si produeix dèficit en la seva execució quan augmenta el temps de demora entre la presentació de l'estímul i la resposta (Delatour i Gisquet-Verrier, 2000). També s'ha vist que les lesions a la CPL que també pot incloure l'escorça IL o l'AC, produeixen deteriorament de la memòria de treball de diferents paradigmes en laberints radials (Fritts et al., 1998; Ragozzino et al., 1998; Taylor et al., 2003), i en tasques de reconeixement d'objectes que requereixen de memòria de treball (Ragozzino et al., 2002).

Diversos estudis han demostrat un paper rellevant del glutamat i la modulació dels seus receptors en la MT. Els receptors de N-metil-D-aspartat (NMDA), especialment les subunitats NR2B, semblen jugar un paper important en la descàrrega persistent observada en el CPF durant la MT (Monaco et al., 2015). El subtipus NR2, confereix heterogeneïtat funcional al complex receptor NMDA, dictant característiques funcionals com ara el temps d'obertura del canal, la permeabilitat al calci, temps de decaïment, i la sensibilitat a agents farmacològics (Paoletti et al., 2013). Les subunitats NR2A i NR2B s'expressen predominantment en el cervell postnatal amb les dues subunitats integrals per als mecanismes de plasticitat i la maduració sinàptica (Monyer et al, 1994;. Sheng et al., 1994; Monaco et al., 2015). El bloqueig de l'activitat del receptor NMDA s'ha demostrat que disminueix la memòria de treball en diverses espècies de mamífers diferents, reforçant el paper important d'aquests receptors de glutamat. Així, per exemple, l'administració crònica de l'antagonista del receptor de NMDA MK-801 (Tsukada et al., 2005) va afectar clarament el rediment en MT en micos. De la mateixa manera, rates tractades amb MK-801 van mostrar una disrupció de la MT que a més depenia de la demora aplicada; indicant que els receptors de NMDA són necessaris per a l'inici del processament mnemònic (Aultman i Moghaddam, 2001; Monaco et al., 2015). La inducció dels dèficits cognitius per antagonisme del receptor d'NMDA també s'ha produït de manera fiable en subjectes humans (Hetem et al, 2000;. Krystal et al, 1994;. Malhotra et al, 1996;. Newcomer et al, 1999; Parwani et al, 2005). Donat el paper decisiu de la memòria de treball per a processos cognitius superiors, els receptors de NMDA del CPF semblarien imprescindibles per a diverses formes de cognició (Collingridge et al., 2013; Monaco et al., 2015). En general, els tractaments basats en antagonistes dels receptors NMDA bloquegen de forma significativa la funcionalitat del CPF doncs es tracta d'una regió de transmissió principalment glutamatèrgica (Roberts et al. 2010; Wang et al. 2013; Van Windergeren et al. 2012; Moghaddam i Jackson 2003; Akirav i Maroun 2006; Takehara-Nishiuchi et al. 2005). Altres neurotransmissors com

l'acetilcolina al CPL, especialment dels receptors muscarínics, també participen en la modulació de la memòria de treball; doncs les infusions d'escopolamina realitzades en aquesta regió deterioren tasques d'aquest tipus de memòria, sobretot quan s'augmenta la demora o la dificultat de la tasca (Brito et al., 1988; Broersen et al., 1995; Chudasama et al., 2004; Grañón et al., 1995; Ragozzino i Kesner, 1998). El paper dels receptors nicotínics ha estat menys estudiat, però s'ha vist que el bloqueig d'aquests receptors en el CPL deteriora la memòria de treball en una tasca espacial d'aparellament demorat amb la mostra (Grañón et al., 1995). Així mateix, diversos treballs han demostrat la influència dopaminèrgica en la CPL tant amb lesions com amb l'administració d'agonistes i antagonistes D1 en tasques d'alternança demorada espacial (Arnsten, 1997; Bubser i Schmidt, 1990; Murphy et al., 1996a; 1996b; Zahrt et al., 1997), i en tasques d'aparellament demorat amb la posició (Broersen et al., 1994; 1995; Seamans et al., 1998). D'altra banda, també s'ha observat una facilitació de la memòria de treball després d'administrar estradiol al CPL (Sinopoli et al., 2006) i s'ha pogut observar que el deteriorament de la memòria de treball a causa de l'edat està relacionat a una disfunció dopaminèrgica en l'escorça prefrontal (Mizoguchi et al., 2009).

MANIPULACIONS PREENTRENAMENT DEL CPL				
PARADIGMA	MANIPULACIÓ	TEST	RESULTATS	ESTUDI
<b>TASQUES D'EVITACIÓ</b>				
<b>EVITACIÓ PASSIVA</b>	Lesió electrolítica CPL	Adq.	= ↑ latència a la reixa electrificada	Jinks i McGregor, 1997
	Lesió àcid quinolínic CPL + part del CPFm (agonista NMDA)	Adq.	=	Muir et al., 1996
	SCH23390 (Antagonista D1)/Muscimol/CNQX (Antagonista AMPA)/APV CPFm	Adq. Test 24h	↓	Izquierdo et al., 2007
<b>EVITACIÓ ACTIVA D'UN SENTIT</b>	Lesió electrolítica CPL	Adq.	↓	Brito i Brito, 1990
<b>EVITACIÓ ACTIVA DE DOS SENTITS</b>	Lesió electrolítica CPL	Adq.	=	Fritts et al., 1998
	Lesió electrolítica CPFm	Adq.	↑ evitacions a l'inici de l'entrenament	Joel et al., 1997
<b>TASQUES DE CONDICIONAMENT CLÀSSIC</b>				
<b>RESPOSTA EMOCIONAL CONDICIONADA</b>	Lesió electrolítica CPL+CIL	Adq.	=	Morgan et al., 1993
		Extinció	↑ resistència a l'extinció	
		Adq.	= inhibició condicionada	Gewirtz et al., 1997
		Extinció	=	
		Reinst.	=	
	Lesió electrolítica CPFm	Extinció	=	Garcia et al., 2006
		Adq.	=	
	Lesió 6-OHDA CPFm	Extinció	↑ resistència a l'extinció	Morrow et al., 1999
	Muscimol/APV CPFm	Adq.	↓	Gilmartin i Helmstetter., 2010
Ifenprodil/Muscimol CPFm	Extinció	↓ Retenció i reaprenentatge	Laurent i Westbrook 2008	
D-cycloserina CPFm (co-agonista glicina)	Extinció	↑	Gupta et al., 2013	



<b>CONDICIONAMENT CONTEXTUAL DE LA POR</b>	Registre potencials evocats CPFm	Extinció	↑ ↓ en animals estressats ↑ Administració i.p DCS	Matsumoto 2010	
<b>CONDICIONAMENT PEL LLOC</b>	APV CPFm	Adq. Test 48h	↓	Barker i Warburton 2008	
<b>AVERSIÓ CONDICIONADA AL GUST</b>	Lesió electrolítica CPL	Adq.	↓	Brito i Brito, 1990	
	Expressió de c-Fos	Extinció	↑ expressió de c-Fos a PL + IL	Mickley et al., 2005	
	D-cicloserina CIL	Extinció	↑	Peters i Vries 2013	
<b>CONDICIONAMENT PALPEBRAL</b>	Muscimol/APV CPFm	Adq.	↓	Takehara-Nishiuchi et al., 2005	
<b>TASQUES DE CONDICIONAMENT OPERANT</b>					
<b>GÀBIA OPERANT</b>	Lesió àcid ibotènic CPL (agonista NMDA)	Adq.	= ↓ sensibilitat a la devaluació del reforç	Killcross i Coutureau, 2003	
	Lesió àcid ibotènic CPL+CIL (agonista NMDA)	Adq.	=	Boulougouris et al., 2007	
		Reversal	=		
	Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	Adq.	=	↓ execució depenent de la demora	Delatour i Gisquet-Verrier, 1999
		Extin. 24h	↓		
	Mecamilamina CPL (antagonista nicotínic)	Extin. 24h	↓	↓	Maruki et al., 2003
Extin. 24h		↓			
Microdiàlisi per ACh al CPFm	Extinció	↑ alliberació d'Ach		Izaki et al., 2001	
<b>TASCA DE CONFLICTES CONTEXTUALS (auditiu i visual) DE RESPOSTA</b>	Muscimol CPL (agonista GABAa)	Adq.	= execució tasca bimodal = execució assaigs congruents ↓ execució assaigs incongruents	Marquis et al., 2007	
<b>TASQUES DE DISCRIMINACIÓ</b>					
<b>DISCRIMINACIÓ VISUAL</b>	Lesió mecànica CPL	Adq.	=	Li Shao, 1998	
		Reversal	↓		
	Lesió electrolítica CPL	Adq.	=	Brito i Brito, 1990	
		Reversal	=		
	Lesió NMDA CPL (agonista NMDA)	Adq.	=	Chudasama et al., 2001	
		Reversal	=		
	Lesió àcid quinolínic CPL+CIL (agonista NMDA)	Adq.	= ↓ execució si s'inclou un component de memòria de treball	Ragozzino et al., 2002	
		Adq.	=		
	Lesió àcid quinolínic CPFm (agonista NMDA)	Reversal	= ↓ revers quan els estímuls són difícils de discriminar	Bussey et al., 1997	
Reversal		=			
Sulpride CPL (antagonista D2)	Adq.	=	Brito et al., 1989		
Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	Adq.	=	Grañon et al., 1995		
Bungarotoxina CPL (antagonista nicotínic)	Adq.	=			
<b>DISCRIMINACIÓ VISUAL, OLFACTÒRIA I DE TEXTURA</b>	Lesió àcid ibotènic CPL+CIL (agonista NMDA)	Reversal	= (intra-modal) ↓ revers al canvi pistes olfactivores a espacials i viceversa (extra-modal)	Birrell i Brown, 2000	

<b>DISCRIMINACIÓ OLFACTÒRIA I ESPACIAL</b>	Bupivacaina 2% CPL+CIL (anestèsic local)	Reversal	Adq. = = (intra-modal) ↓ reversal al canviar de pistes olfactòries a espacials i viceversa (extra-modal) ↑ respostes perseveratives	Ragozzino et al., 2003
<b>DISCRIMINACIÓ VISUAL-ESPACIAL</b>	Lesió àcid ibotènic CPL+CIL (agonista NMDA)	Adq.	=	Delatour i Gisquet-Verrier, 1999
<b>DISCRIMINACIÓ ESPACIAL</b>	Escopolamina CPL+CIL (antagonista muscarínic)	Adq.	=	Ragozzino i Kesner, 1998
<b>TASQUES D'ALTERNANÇA</b>				
<b>ALTERNANÇA DEMORADA EN LABERINT EN T, EN Y I RADIAL</b>	Lesió electrolítica CPL	Adq.	↓ execució, que millora amb la pràctica si la demora és curta	Brito i Brito, 1990
		Adq.	↓ execució, però són capaços de reaprendre la tasca	Brito et al., 1982
	Lesió 6-OHDA CPFm	Adq.	↓	Bubser i Schmidt, 1990
	SKF 81297 PL (agonista D1)	Adq.	↓ dosi-depenent. Millora amb la infusió de SCH 23390 (antagonista D2)	Zahrt et al., 1997
<b>ALTERNANÇA DEMORADA ESPACIAL EN GÀBIA OPERANT</b>	Lesió electrolítica CPFm	Adq.	↓ precisió, però millora amb l'exposició perllongada a les condicions experimentals	Van Haaren et al., 1985
<b>ALTERNANÇA NO DEMORADA EN LABERINT RADIAL</b>	Lesió 6-OHDA CPFm	Adq.	=	Bubser i Schmidt, 1990
<b>TASQUES ESPACIALS</b>				
<b>LABERINT AQUÀTIC</b>	Lesió per radiofreqüència CPL+CIL	Adq. RT	= =	De Bruin et al., 1994
		Reversal	↓ execució inicial en reversal intra-modal ↓ execució al canviar de pistes espacials a visuals = des d'un o dos punts de sortida diferents	
	Lesió per radiofreqüència CPL	Adq.	↓ des de 4 posicions de sortida diferents (deficit específic per les dues noves posicions introduïdes)	Grañon i Poucet, 1995
<b>LABERINT RADIAL</b>	Lesió electrolítica CPL	Adq.	↓	Fritts et al., 1994
		Adq. Reversal	= =	Joel et al., 1997
	Lesió àcid ibotènic CPL (agonista NMDA)	Adq.	= ↓ si la localització diana és variable	Delatour i Gisquet-Verrier, 1996
	Lesió àcid ibotènic CPL+CIL (agonista NMDA)	Adq.	Estratègia win-shift no demorada: = ↓ transitòria a l'introduir un minut	Delatour i Gisquet-Verrier, 2006

			de demora	
			Estratègia win-shift demorada: = sense impediment a l'augmentar la demora de 5 a 30 minuts ↓ a l'introduir un element distractor durant la demora	
	Lesió excitotòxica CPL+AC	Adq.	Win-shift demorat: ↑ errors inter- i intra-fase ↑ latència	Taylor et al., 2003
	Lesió àcid quinolínic CPL+CIL (agonista NMDA)	Adq.	↓ discriminació especial transitòria ↓ memòria de treball espacial	Ragozzino et al., 1998
	Lidocaina 2% CPL (anestèsic local)	Adq.	Estratègia win-shift no demorada: = ↓ memòria de treball	Semans et al., 1995
<b>LABERINT RADIAL</b>	Lidocaina 2% CPL (anestèsic local)	Adq.	Estratègia win-shift no demorada: = ↓ execució al canviar d'un paradigme especial a un de cerca de menjar	Semans et al., 1995
	Escopolamina CPL+CIL (antagonista muscarínic)	Adq.	↓ dosi-dependent Millora amb l'administració d'oxotremorina concomitant	Ragozzino i Kesner, 1998
	SCH 23390 CPL (antagonista D1)	Adq.	Estratègia win-shift demorada: ↓ memòria de treball dosi-dependent	Seamans et al., 1998
	Sulpride CPL (antagonista D2)	Adq.	Estratègia win-shift no demorada: = Estratègia win-shift demorada: = memòria de treball	
	Estradiol CPL	Adq.	↑ memòria de treball	Sinopoli et al., 2006
	MK-801 CPFm (antagonista NMDA)	Adq. Test 1h	↓ memòria de treball	Rios-Valentin et al., 2009
	Muscimol CPL + CIL (agonista GABAa)	Adq. Reversal	= = canvi d'estratègia = reversió espacial	Rich i Shapiro, 2007
<b>LABERINT EN CREU</b>	Tetracaina 2% CPL + CIL (anestèsic local)	Adq. Reversal	Discriminació de lloc i resposta: = adquisició de lloc i resposta = reversió intra-modal ↓ reversió cross-modal	Ragozzino et al., 1999a
	SCH 23390 CPL + CIL (antagonista D1)	Adq. Reversal	Discriminació visual i resposta	Ragozzino 2002

			↓ reversió cross-modal ↑ respostes perseveratives	
	MK-801 CPFm (antagonista NMDA)	Reversal	↓	Watson i Stanton 2009
<b>TASCA ESPACIAL CHEESE-BOARD</b>	Tetracaina 2% CPL + CIL (anestèsic local)	Adq. Reversal	Discriminació visual i espacial = adquisició visual i espacial ↓ reversió cross- modal	Ragozzino et al., 1999b
<b>TASCA ESPACIAL DE LOCALITZACIÓ D'UNA CAIXA ENTRE 13</b>	Lesió àcid ibotènic CPL + CIL (agonista NMDA)	Adq.	= des d'una posició de sortida ↓ des de 4 posicions de sortida	Delatour i Gisquet-Verrier, 2000
<b>TASQUES D'APARELLAMENT I NO APARELLAMENT</b>				
<b>NO APARELLAMENT DEMORAT AMB LA MOSTRA</b>	Lesió electrolítica CPFm	Adq. Reversal	= ↓ reversió d'un paradigma d'aparellament a un de no aparellament	Joel et al., 1997b
<b>NO APARELLAMENT DEMORAT AMB LA MOSTRA</b>	Lesió per radiofreqüència CPL	Adq.	↓	Grañon et al., 1994
	Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	Adq.	↓	Brito et al., 1989
	Bungarotoxina CPL (antagonista nicotínic)	Adq.	=	Grañon et al., 1995
	Sulpride CPL (antagonista D2)	Adq.	=	Brito et al., 1989
<b>APARELLAMENT DEMORAT AMB LA MOSTRA</b>	Lesió per radiofreqüència CPL	Adq.	↓	Grañon et al., 1994
	Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	Adq.	↓	Grañon et al., 1995
	Bungarotoxina CPL (antagonista nicotínic)	Adq.	↓	Grañon et al., 1995
<b>NO APARELLAMENT DEMORAT AMB LA POSICIÓ</b>	Lesió àcid ibotènic CPL + CIL (agonista NMDA)	Adq.	= ↓ si la demora és variable, però no si és fixa	Delatour i Gisquet-Verrier, 1996; 2000
	Lesió NMDA CPL + CIL (agonista NMDA)	Adq.	= = encara que s'augmenti la demora	Gisquet-Verrier et al., 2000
	Lesió NMDA CPL + CIL (agonista NMDA)	Adq.	= ↓ si la lesió inclou l'AC	Dias i Aggleton, 2000
	Lesió NMDA CPFm (agonista NMDA)	Adq.	↓ precisió ↑ biaix	Aggleton et al., 1995
	Lesió NMDA CPL (agonista NMDA)	Adq.	Dèficits dependents i no dependents de la demora ↓ precisió ↑ latència de resposta	Chudmasa i Muir, 1997
<b>APARELLAMENT DEMORAT AMB LA POSICIÓ</b>	Lesió NMDA CPL + CIL (agonista NMDA)	Adq. Reversal	↓ adq. ↑ perseverança ↓ reversió d'aparellament a no aparellament	Dias i Aggleton, 2000
	Escopolamina CPFm (antagonista muscarínic)	Adq.	↓ dependent de la dosi i de la demora	Broersen et al., 1994
	Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	Adq.	↓ dependent de la dosi i de la demora ↑ latència de resp.	Broersen et al., 1995

	Apomorfin CPL (antagonista DA)	Adq.	=	
	Apomorfin CFPm (antagonista DA) Cis-flupenthixol CFPm (antagonista DA)	Adq.	↑ latència de resposta ↓ freqüència de nose-pokes dosi- dependents	Broersen et al., 1994
	Cis-flupenthixol CPL (antagonista DA)	Adq.	↓ dependent de la dosi i de la demora	
	SCH 23390 CPL (antagonista D1)	Adq.	↑ latència de resposta ↓ freqüència de nose-pokes	Broersen et al., 1995
<b>TASQUES ATENCIONALS</b>				
<b>5-CSRTT</b>	Lesió àcid ibotènic CPL + CIL (agonista NMDA)	Adq.	↓ precisió inicial ↑ respostes perseveratives dependent de la demora	Passetti et al., 2002
			↓ precisió ↑ respostes perseveratives i errors d'omissió	Passetti et al., 2003
	Lesió àcid quinolínic CPL + CFPm (agonista NMDA)	Adq.	↓ precisió ↑ latència de resposta ↑ respostes perseveratives	Muir et al., 1996
<b>5-CSRTT</b>	Lesió amb 192 IgG- Saporina CPL+CIL (neurotoxina colinèrgica selectiva)	Adq.	↓ vigilància ↓ precisió quan les demandes atencionals són elevades ↑ respostes perseveratives quan els EE es presenten imprevisiblement ↑ errors d'anticipació	Dalley et al., 2004b
	Sulpride CPL (antagonista D2)	Adq.	=	
	SCH 23390 CPL (antagonista D1)	Adq.	↓ precisió en subjectes amb nivells basals alts	
	SKF 38393 CPL (agonista D1)	Adq.	↑ precisió en subjectes amb nivells basals baixos Els efectes es bloquegen amb la infusió d'SCH 23390	Grañon et al., 2000
	Nicotina CPL (agonista nicotínic)	Adq.	↑ precisió dosi- dependent ↑ errors d'omissió al inici	Hahn et al., 2003
	Microdiàlisi per ACh i NA al CPF	Adq.	↑ alliberació d'ACh i NA	Dalley et al., 2001
	Microdiàlisi per ACh al CPFm	Adq.	↑ alliberació d'ACh	Passetti et al., 2000
	Lesió amb 192 IgG- Saporina NBM (neurotoxina colinèrgica selectiva) + Microdiàlisi per ACh al CPFm	Adq.	↓ funció atencional ↑ alliberació d'ACh a l'inici de la tasca ↓ alliberació d'ACh durant la tasca	McGaughy et al., 2002
	CPP CPFm	Adq. Test	↓ funció atencional	Murphy et al., 2005
	APV CPFm (antagonista NMDA)	Adq.	↓ funció atencional Model Esquizofrènia	Carli et al., 2011

	CPP CPFm	Adq.	↓ funció atencional ↑ Impulsivitat	Pozzi et al., 2011
<b>3-CSRTT</b>	Lesió per radiofreqüència CPFm	Adq.	↓ respostes correctes ↑ errors d'omissió ↓ latència de resposta	Broersen i Uylings, 1999
<b>TASCA VISUAL D'ATENCIÓ SOSTINGUDA</b>	Lesió amb 192 IgG-Saporina NBM (neurotoxina colinèrgica selectiva) + Registre electrofisiològic al CPFm	Adq.	↓ funció atencional ↓ activitat neuronal general ↑ activitat neural quan augmenta la demanda atencional	Gill et al., 2000
	APV al PB (antagonista NMDA) + Microdiàlisi per ACh al CPFm	Adq.	↓ atenció sostinguda ↓ habilitat per detectar les senyals ↑ alliberació d'ACh correlacionant amb l'augment de la demanda atencional	Kozak et al., 2006
<b>CAM (tasca combinada d'atenció i memòria)</b>	Escopolamina CPL+AC (antagonista muscarínic)	Fase atencional	= precisió ↑ errors d'omissió ↑ latència de resposta ↑ respostes prematures dosi-dependent	Chudasama et al., 2004
		Fase de memòria: Inmediata 4" 8" 16"	↓ precisió dosi-dependent i independent de la demora ↑ latència de resposta	
<b>VISUAL TIMING TASK (atenció sostinguda i inhibició de resposta)</b>		Adq.	↓ respostes correctes ↑ respostes prematures ↑ errors d'omissió	Broersen i Uylings, 1999
<b>TASCA VISUAL D'ATENCIÓ SELECTIVA</b>	Lesió per radiofreqüència CPFm	Adq.	= quan les demandes atencionals són baixes (2 estímuls)	Grañon et al., 1999
<b>TASCA VISUAL D'ATENCIÓ SOSTINGUDA</b>		Adq.	↓ atenció sostinguda per detectar i reaccionar a variacions subtils de brillantor	
<b>TASCA DE DETECCIÓ DE SENYAL</b>	Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	Adq.	↓ precisió quan la senyal apareix de forma aleatòria = precisió quan la senyal apareix de forma predictiva	Williams et al., 1999
<b>SET-SHIFTING ATENCIONAL</b>	Benoxathian CPFm (antagonista $\alpha$ 1-adrenèrgic)	Adq.	Bloqueig de la millora de l'atipamezole (antagonista auto-recep. $\alpha$ 2-adrenèrgic) sistèmic	Lapiz i Morilak, 2006
	Betaxodol CPFm (antagonista $\beta$ -adrenèrgic)	Adq.	No bloqueja la millora	

TASQUES MOTORES				
<b>DOLOR NEUROPÀTIC</b>	DCS CPL	Adq.	↓ Conducta de dolor	Millicamps et al., 2007
TASQUES OLFACTÒRIES				
<b>TRANSMISSIÓ SOCIAL DE PREFERÈNCIA ALIMENTÀRIA</b>	Escopolamina CPL (antagonista muscarínic)	RT Inmed RT 24h	↓ ↓	Boix-Trellis et al., 2007
<b>DISCRIMINACIÓ SIMPLE D'OLORS</b>	Registre electrofisiològic CPL	Adq.	↑ activitat neuronal durant l'aprenentatge de la tasca	Kublik i Sara, 2002
	D-cycloserine CPL (co-agonista glicina)	Adq. Test 24h	↑ Retenció	Villarejo-Rodríguez et al., 2011
	D-cycloserine CPL (co-agonista glicina) + Lesió PF	Adq. Test 24h	↑ Reversió dèficits deguts a la lesió	Villarejo-Rodríguez et al., 2012
<b>INFERÈNCIA TRANSITIVA</b>	Lesions CPL i CIL	Adq.	↓	DeVito et al., 2010

**TAULA 1.** Efectes de diferents manipulacions preentrenament en el córtex prelímbic sobre l'execució de diferents tasques conductuals. [6-OHDA: 6-hidroxidopamina; 5-CSRTT: tasca de *five-choice serial reaction time*; 3-CSRTT: tasca de *three-choice serial reaction time*]

MANIPULACIONS POSTENTRENAMENT DEL CPL				
PARADIGMA	MANIPULACIÓ	TEST	RESULTATS	ESTUDI
TASQUES ESPACIALS				
<b>LABERINT EN CREU</b>	Muscimol CPL+CIL (agonista GABAa)	24h	↓ retenció de l'estratègia apresada 24 hores abans	Rich i Shapiro, 2007
TASQUES D'APARELLAMENT I NO APARELLAMENT				
<b>NO APARELLAMENT DEMORAT AMB LA MOSTRA</b>	Lesió per radiofreqüència CPL	7 dies	↓ dèficits inicials, però recupera el nivell d'execució normal després de la lesió	Grañon et al., 1994
<b>APARELLAMENT DEMORAT AMB LA MOSTRA</b>			↓ encara que tingui experiència prèvia amb la tasca prelesió, mostra dèficits	
TASQUES OLFACTÒRIES				
<b>DISCRIMINACIÓ SIMPLE D'OLORS</b>	APV CPL (antagonista NMDA)	48h	↓	Tronel i Sara, 2003
	Timodol CPL (antagonista β-adrenèrgics)	48h	= administració 5 min post ↓ administració 2h post	Tronel et al., 2004
	Microdiàlisi per NA al CPL	32m	↑	
		48m	=	
		64m	=	
		80m	=	
		96m	=	
		112m	=	
128m	↑			
144m	=			
	Expressió de c-Fos al CPL	1,5h	↑	Tronel i Sara, 2002
	Escopolamina (antagonista muscarínic)	24h	↓ Retenció i reaprenentatge	Carballo-Marquez et al., 2008
TASQUES DE RECOONEIXEMENT				
<b>RECOONEIXEMENT D'OBJECTES</b>	APV CPFm (antagonista NMDA)	24h 3h	↓ Retenció i reconsolidació =	Akirav i Maroun, 2006

**TAULA 2.** Efectes de diferents manipulacions postentrenament en el córtex prelímbic sobre l'execució de diferents tasques conductuals.

Amb tot, el paper del CPL en tasques de memòria de treball és controvertit, ja que s'ha vist que augmentant la demora no sempre es produeixen dèficits importants en subjectes amb els receptors del CPL bloquejats (vegeu Chudasama et al., 2004). D'aquesta manera, Gisquet-Verrier i Delatour (2006) han mostrat que les lesions de l'escorça CPL-CIL només impedeixen l'execució de tasques demorades quan s'introdueixen canvis com la presentació d'elements distractors durant el període de demora, o quan es requereixen canvis d'estratègies. En aquest sentit, s'entén que aquests dèficits podrien ser més aviat deguts a un impediment en la flexibilitat conductual, i no només a un deteriorament en la memòria de treball.

Aprendre a associar objectes específics o accions amb les recompenses i recordar les associacions són tasques quotidianes crucial per a la nostra adaptació flexible al medi que ens envolta. Aquests processos cognitius d'ordre superior depèn de l'escorça prefrontal (CPF) i els circuits frontoestriatals que connecten les àrees en el lòbul frontal amb el cos estriat en els ganglis basals (Puig et al., 2014). La flexibilitat conductual es defineix com la capacitat per trobar diferents alternatives a l'hora d'obtenir un resultat i alternar entre diferents criteris d'actuació que poden ser necessaris per respondre a les demandes canviants d'una tasca o situació (Prado et al., 2017). Molts estudis han observat un impediment o un deteriorament quan es demana el canvi d'una estratègia a una altra en diversos paradigmes després de lesionar o inactivar temporalment el CPL. Així mateix, s'ha vist que aquests efectes són menys severos o fins i tot inexistents quan el canvi d'estratègia que es requereix s'emmarca dins d'una mateixa modalitat sensorial (intramodal), com la reversió d'aprenentatges de discriminació simple olfactoris, espacials i visuals (Birrell i Brown, 2000; Boulougouris et al., 2007; Chudasama et al., 2001; de Bruin et al., 1994; Joel et al., 1997a; Ragozzino et al., 1999a; 1999b; 2003). Tot i això, altres treballs amb lesió al CPL han presentat resultats contradictoris i han observat dèficits en la reversió d'aquests aprenentatges quan s'augmenta la dificultat de la tasca (Bussey et al., 1997). Méndez i col·laboradors (2010), van demostrar que subjectes amb un model específic d'encefalopatia hepàtica presentaven dificultats per realitzar un aprenentatge de reversió, probablement a causa de la disfunció de l'activitat neuronal en el CPF (Méndez et al., 2010). En canvi, les lesions, els bloquejos de receptors i les inactivacions del CPL, gairebé sempre produeixen deteriorament de l'aprenentatge quan es requereixen canvis d'estratègies que alternen la modalitat sensorial (extra-modal) com el canvi de pistes olfàctories o visuals a espacials o textures, en tasques com el laberint aquàtic de Morris o tasques de discriminació (Birrell i Brown, 2000; de Bruin et al., 1994; Ragozzino et al., 1999b; Ragozzino et al., 2003), així com el canvi de paradigma de no aparellament a aparellament demorat amb la mostra, o el canvi de discriminació de resposta a discriminació visual o espacial i viceversa (Dias i Aggleton, 2000; Joel et al., 1997a; Ragozzino et al., 1999a; Ragozzino, 2002). També s'han observat altres dèficits com la disminució en la capacitat de planificar adequadament noves trajectòries en una tasca de navegació (Delatour i Gisquet-Verrier, 2000; Grañón i Poucet, 1995) i l'impediment d'una resposta flexible en altres



tasques espacials i visuals (Delatour i Gisquet-Verrier, 2000; Gisquet-Verrier i Delatour, 2006; Ragozzino et al., 1999a; Seamans et al., 1995).

A més, estudis del nostre laboratori han demostrat que el bloqueig de receptors muscarínics del CPL afecta la tasca de transmissió social de preferència alimentària, una tasca que requereix de l'expressió flexible del record en un context de retenció molt diferent al de l'aprenentatge (Carballo-Márquez et al., 2009; Boix-Trelis et al., 2007; Portero-Tressera et al., 2013). Finalment, s'ha vist que la lesió o inactivació de l'escorça augmenta el nombre de respostes perseverants en diverses tasques (Birrell i Brown, 2000; Dias i Aggleton, 2000; Grañón et al., 1994; Passetti et al., 2002; Ragozzino, 2002; Ragozzino et al., 1999a; 1999b). L'error perseverant denota un impediment a l'hora de canviar de categoria o estratègia després d'haver rebut un feedback negatiu en l'assaig anterior, i és un dèficit de flexibilitat cognitiva lligat a la manca d'inhibició de resposta.

D'altra banda, la flexibilitat cognitiva s'ha demostrat que és necessària per aprendre a realitzar accions dirigides a un objectiu concret i per planificar estratègies per arribar-hi. En aquest context, molts estudis han constatat que el CPL és una estructura necessària per a la detecció de contingències instrumentals d'acció-resultat, és a dir, per a la detecció de relacions predictives entre accions i els seus posteriors resultats, així com per adaptar-se a les manipulacions d'aquestes contingències (Balleine i Dickinson, 1998; Killcross i Coutureau, 2003). Les lesions del CPL en ratolins impedeixen la sensibilitat al canvi en el valor reforçant de les contingències acció-resultat, de manera que anul·len la capacitat per realitzar les respostes voluntàries flexibles dirigides a un objectiu (Killcross i Coutureau, 2003). Recentment també s'ha considerat a el CPF una regió clau per guiar la conducta en situacions de conflicte de respostes, i en aquest sentit s'ha vist en un estudi que la inactivació del CPL amb muscimol deteriora la resposta dels subjectes experimentals en els assajos on es presenten situacions incongruents (Marquis et al., 2007).

La inhibició de conductes fa referència a la condició d'interrupció d'alguna resposta o seqüència de conductes que anteriorment han estat apreses o que són innates per resoldre alguna tasca o acció. En aquesta línia Hayton i col·laboradors (2010) han estudiat els canvis sinàptics que es produeixen en el CPFm associats a l'aprenentatge i a la inhibició de conductes. Es va poder observar que l'entrenament en la inhibició augmentava de manera significativa la contribució dels receptors AMPA del CPL, sent aquesta potenciació sinàptica paral·lela a l'aprenentatge i l'extinció de les respostes d'inhibició. Estudis en primats han demostrat l'existència de neurones, en l'escorça prefrontal, que només descarreguen en els períodes en què l'animal s'ha de concentrar i inhibir respostes incorrectes en espera de la resposta adequada (Goldman-Rakic, 1996; Fuster, 1997). Lesions específiques del CPL produeixen deteriorament de l'evitació passiva (Jinks i McGregor, 1997), en la qual l'animal ha d'aprendre a no realitzar una conducta per evitar l'aparició de l'estímul aversiu, i dels processos d'inhibició

de resposta en una tasca atencional visual (Broersen i Uylings, 1999). A més, un estudi recent (Ragozzino, 2007) d'inactivació del CPL va mostrar dèficit en l'adquisició d'una tasca de discriminació quan es va requerir que el subjecte inhibís una estratègia apresada prèviament. També s'ha observat que les lesions que involucren alhora al CIL produeixen un augment dels errors d'inhibició en una tasca discriminatòria de go-no go (Delatour i Gisquet-Verrier, 1999). Així mateix, la integritat de la CPFm és necessària perquè es pugui dur a terme l'extinció d'un condicionament de por (Akirav i Maroun, 2007; Morgan i LeDoux, 1995; Morgan i col., 1993; Morrow et al., 1999; Quirck et al., 2006), entenent l'extinció com un nou aprenentatge que competeix amb el condicionament anterior. A més, un estudi de marcatge de C-Fos va mostrar un augment en l'expressió d'aquesta proteïna en les escorces CPL-CIL durant l'extinció d'un condicionament aversiu al gust (Mickley et al., 2005). No obstant això, no tots els resultats concorden, ja que dos estudis de lesió electrofòtica de les escorces CPL-CIL no van mostrar dèficits en la inhibició de la por condicionada ni en la seva extinció (Garcia et al., 2006; Gewirtz et al., 1997). Pel que fa a la funció colinèrgica, s'han registrat alts nivells d'ACh al CPFm durant l'extinció d'una resposta de prémer una palanca (Izaki et al., 2001) i s'ha observat que un bloqueig dels receptors nicotínics en el CPFm impedeix l'adquisició d'una resposta d'extinció (Maruki et al., 2003). Finalment, el deteriorament en el moment d'extingir respostes condicionades associat a anomalies en el CPFm s'ha relacionat amb el trastorn d'estrès posttraumàtic en humans. Els pacients que el pateixen no són capaços d'extingir la resposta condicionada de por o estrès encara que ja no se'ls torni a presentar l'estímul aversiu mai més, i s'ha observat anomalies funcionals i estructurals en les àrees homòlogues al CPFm de la rata en pacients amb aquest trastorn (Milad et al., 2006).

Altres estudis han implicat el CPL en els processos atencionals. La capacitat d'atenció s'entén com l'expressió cognitiva o conductual d'un mecanisme neural basat en l'eficàcia en l'adquisició de la nova informació en situacions caracteritzades per la presència de múltiples estímuls, seleccionant aquella informació que és rellevant i ignorant, alhora, aquella que és irrellevant (Sarter et al., 2003; Wenk, 1997). En aquest context, són molts els treballs que han demostrat un paper rellevant del CPF en funcions atencionals (Birrell i Brown, 2000; Broersen i Uylings, 1999; Bussey et al., 1997; Chudasama et al., 2003, Dalley et al., 2004a, Dias et al., 1996; Olton et al., 1988). Més concretament, en diversos estudis de lesió del CPL s'ha observat dèficits en la five-choice serial reaction time task (5-CSRTT), una tasca en la qual l'animal ha de respondre davant de la presentació aleatòria de cinc estímuls visuals, i en altres tasques similars (Broersen i Uylings, 1999; Dalley et al., 2004b; Muir et al., 1996; Passetti et al., 2002; 2003). En canvi, el dany en el CPL no sembla que provoqui dèficits quan la tasca requereix d'una baixa demanda atencional, com per exemple quan es presenten dos estímuls visuals en comptes de cinc (Grañón et al., 1998). De manera que el CPL estaria implicada en processos d'alta demanda atencional, en tasques de control dels processos atencionals que requereixen atenció sostinguda i selectiva, i no tant en tasques on l'actuació atencional és automàtica

(Williams et al., 1999). S'ha proposat que les projeccions colinèrgiques del PB cap al CPL serien, en part, responsables d'aquest paper del CPL en l'atenció. Partint que les lesions colinèrgiques específiques del PB produeixen diferents dèficits en tasques atencionals, i que el CPL rep nombroses projeccions colinèrgiques d'aquest nucli (Chiba et al., 1995; Harati et al., 2008; McGaughy et al., 1996; Turchi i Sarter, 1997), molts treballs s'han centrat en aquestes projeccions colinèrgiques en l'atenció. D'aquesta manera, s'ha observat que la lesió colinèrgica amb la immunotoxina colinèrgica 192 immunoglobulina G (IgG) saporina del NMB disminueix l'activitat de les neurones del CPL durant l'execució d'una tasca d'atenció sostinguda (Gill et al., 2000). Així mateix, la lesió del CPFm amb aquesta mateixa neurotoxina deteriora certes tasques atencionals (Dalley et al., 2004b) i altera l'atenció sostinguda en condicions d'alta demanda atencional (Gill et al., 1999). A més, s'ha observat que el bloqueig amb escopolamina dels receptors muscarínics del CPL deteriora tasques d'alta demanda atencional, especialment quan els estímuls es presenten de manera aleatòria (Chudasama et al., 2004; Williams et al., 1999). I també s'ha demostrat que la infusió de nicotina al CPL augmenta la precisió de la resposta de manera dosi-depenent en la 5-CSRT (Hahn et al., 2003). D'altra banda, diversos estudis de microdiàlisi in vivo han demostrat increments sostinguts de l'alliberament d'Ach i l'activitat neuronal en el CPFm i el nivell de demanda atencional de la tasca (Gill et al., 2000; Sarter et al., 1996). Tot i això, s'ha vist que altres sistemes de neurotransmissió del CPL també intervindrien en la modulació dels processos atencionals, com el dopaminèrgic (Grañón et al., 2000), el glutamatèrgic (Murphy et al., 2005), el noradrenèrgic (Dalley et al., 2001; Lapiz i Morilak, 2006) i, en menor mesura, el serotoninèrgic (Dalley et al., 2004b).

No obstant això, i encara que la majoria dels estudis sobre el CPL l'han relacionat amb funcions executives o funcions cognitives complexes com les que s'han esmentat, altres treballs l'han involucrat amb la modulació de la memòria a llarg termini. Un treball d'inactivació amb muscimol de l'escorça CPL-CIL mostra que, tot i que els subjectes inactivats són capaços d'adquirir els canvis d'estratègia en un laberint en creu, no són capaços de recordar, 24 hores després, quina era l'última estratègia apresada i perseveren en l'estratègia apresada abans de la inactivació (Rich i Sapiro, 2007). Això es va interpretar com una afectació de la consolidació de la memòria. També Zhang et al., (2011) van relacionar la formació de la memòria amb la CPL al observar que inhibint la síntesi de la proteïna c-fos en les escorces CPL-CIL es bloquejava la consolidació de la memòria d'aprenentatges d'evitació.

En resum, tal com s'ha exposat anteriorment, el CPL sembla estar implicat en diversos processos cognitius i funcions executives com són la memòria de treball, la flexibilitat cognitiva i conductual, els processos atencionals o la consolidació de la memòria, que fan d'ella una de les escorces de major complexitat funcional i una de les regions de major interès dins del propi CPFm.

## Condicionament instrumental i CPF

La planificació i execució d'accions dirigides a objectius es pot considerar la base del condicionament instrumental, en la que l'animal o la persona analitza una situació o contingència, valora el cost de la seva activitat i la magnitud de la recompensa, i finalment pren una decisió en forma de resposta operant. El còrtex prefrontal i l'estriat han mostrat tenir un paper clau en aquest procés. S'ha pogut constatar mitjançant models d'imatge per ressonància magnètica funcional que aquestes dues estructures (CPF lateral i estriat) són sensibles al error de predicció de la recompensa, i la seva activitat disminueix quan la dificultat de la memòria de treball, depenent de CPF, interferia en el aprenentatge (Collins et al., 2017). Estudis anteriors ja havien esbossat la importància de la relació del CPF i el estriat medial en el procés de presa de decisions, doncs aquesta marcarà la tendència estratègica a seguir per part del subjecte (Piray et al., 2016), i més concretament el CPL i les seves projeccions al nucli estriat dorsomedial posterior serien crítiques en el aprenentatge dirigit a objectius que hem esmentat (Hart i Balleine, 2016). En aquest àmbit, les representacions internes de les relacions acció-resposta són importants per l'adaptació flexible del comportament motivat en entorns dinàmics. Clarament el CPF està implicat en aquesta planificació i execució dirigida a objectius. Concretament el CPFm s'encarregaria de codificar els canvis en el nombre d'accions requerides per obtenir la recompensa, en canvi el còrtex orbitofrontal (OFC) seria sensible a les fluctuacions de la magnitud del resultat de l'acció, així doncs un subconjunt de neurones del OFC rastrejaria la disponibilitat de resultats (Simon et al., 2015). Altres evidències que vinculen el CPF en aquest procés són els estudis d'estimulació directa transcraneal sobre el CPF dorsolateral esquerra, un tractament que provoca un increment en l'aleatorietat d'elecció (Turi et al., 2016), o els estudis d'inhibició de la mateixa regió, provocant dificultats en la classificació semàntica de situacions (Balconi i Canavieso, 2014).

El condicionament instrumental pot extingir-se fàcilment localitzant el subjecte en un nou context o contingència (B) en la que les seves accions no desemboquin als mateixos resultats. No obstant, si després de l'aprenentatge d'extinció situem al subjecte en el context original en el que es va establir el condicionament instrumental (A), aquest adquirirà novament la resposta condicionada amb major facilitat degut al fenomen conegut com renovació (A-B-A). Doncs bé, en aquest procés també té un paper important el CPFm dorsal i ventral (Eddy et al., 2016), concretament el CPL, el qual després de ser inactivat per l'administració de Baclofen i Muscimol (agonistes GABA) es produïa una atenuació de la renovació del aprenentatge extingit (Trask et al., 2017). Aquest indici podria obrir possibilitats terapèutiques en el tractament de les adiccions, evitant les recaigudes al tornar al subjecte al entorn "real" on va adquirir el comportament operant de tipus adictiu.

L'avenç en tècniques d'investigació, així com el fort interès en esbrinar l'especificitat funcional de les estructures neuroanatòmiques del CPFm (Gisquet-Verrier i Delatour, 2000) han conduït els estudis recents a plantejar la diferenciació de les àrees incloses en aquesta regió, doncs aquestes actuen com un amplificador i/o modulador de les senyals que reben. Per exemple, una única neurona del tàlem mediodorsal pot innervar varies arees del CPFm al mateix temps i oferir patrons de projecció variats. L'extensió d'aquestes projeccions i la seva distribució irregular podrien explicar la heterogeneïtat funcional del CPFm (Kuramoto et al. 2016). En la mateixa línia s'ha pogut comprovar com d'una mateixa procedència, un estímul activador pot mostrar diferents intensitats de resposta en funció de la profunditat de la capa diana i la regió a l'estructura a la que pertanyi (Cheriyani et al. 2016). Així doncs, a través d'estudis més específics com el de Jean-Richard-Dit-Bressel i McNally (2016) després d'analitzar l'efecte sobre el condicionament instrumental aversiu que pot tenir l'administració de Baclofen i Muscimol sobre varies estructures del CPF, i malgrat que la inactivació del CPL i el CIL no va tenir efectes consistents, si que es va poder reafirmar el paper del OFC alhora de guiar el comportament per evitar els càstigs i el paper del còrtex agranular insular (RAIC) en el procés d'avaluació de les eleccions i la posterior presa de decisions. No obstant, altres estudis si que permeten diferenciar la funcionalitat del CPL i el CIL. El rol de les projeccions que arriben al CPL o al CIL pot ser diferent. És el cas de la via hipocamp ventral – CPL, la qual fomenta l'expressió de la por, en canvi la inhibició de la via hipocamp ventral – CIL limita la supressió de la por (Wang et al. 2016), aquest fenomen també està descrit per altres investigadors i es suggereix també que les neurones bipolars del CIL inhibeixen GABAèrgicament les neurones piramidals del CPL. Estaríem parlant d'un sistema ansiogènic modulad positivament pel CPL i les estructures relacionades, i un circuit ansiolític regulat per l'activitat inhibidòria del CIL (Saffari et al. 2016; Susuki et al. 2016; Fu et al. 2016). S'ha proposat que el sistema ansiogènic del CPL podria dependre del increment de la síntesi de òxid nítric en el CPL (Vila-Verde et al. 2016). Taylor et al. (2016) descriu una via hipocamp ventral – CPFm que a través de la seva recurrència generaria potenciació a llarg termini en memòria espacial. Aquest suggeriment i les evidències en els aprenentatges de tipus emocional esmentats anteriorment ens permeten interpretar el CPL com l'estructura encarregada de conservar i reactivar les conductes resultat d'aprenentatges adaptatius, ignorant el procés d'extinció i fomentant comportaments poc flexibles. En canvi, el CIL es presentaria com una estructura predominantment inhibidòria que probablement modula les funcions executives i de flexibilitat cognitiva, evitant les conductes persistents i facilitant l'extinció d'aprenentatges no adaptatius. Segons estudis recents, mitjançant condicionament instrumental aversiu, el CIL estaria implicat en l'aprenentatge d'extinció i en la modulació de respostes pavlovianes i operants. La inactivació del CIL atenuaria la resposta motora condicionada, i la hiperactivació del CIL promouria estratègies conductuals de mobilització i la supressió de comportament de inmovilització davant d'estímuls aversius (Halladay i Blair, 2017). Però, cal destacar que estudis anteriors no foren tan fermes distingint topografia funcional entre CPL i CIL.

Mentre la majoria de treballs identifiquen el CPL com una estructura clau en l'execució del comportament dirigit a objectius, i el CIL com un agent controlador que suprimeix el comportament en favor de la flexibilitat cognitiva, Moorman i Aston-Jones (2015) defensen que ambdues estructures codifiquen l'inici del comportament (recerca de recompensa) i la extinció d'aquest indistintament i que seria el context el element que donaria valor al esforç òptim a emprar en cada resposta.

Les estructures CPL i CIL no només mostren ser diferents l'una de l'altra en termes funcionals. A través d'altres estudis s'ha pogut veure les seves predominàncies de innervació glutamatèrica: CPL-Acumbens Core (centre) i CIL-Acumbens Shell (enbolcall) (Quiroz et al. 2016), així com la seva resposta modulada per estímuls interns, com el cicle d'estrogens sobre el CPL (Ferreira et al. 2016), o la reactivitat plàstica a estímuls externs: òptim funcionament de CPL en aprenentatge d'extinció en rates criades en parelles (Smith 2016), retracció dendrítica en CIL degut a estrès agut (Moench et al. 2016) o reducció de la densitat dendrítica en CIL degut a una dieta alta en greixos (Dingess et al. 2016). Aquests i altres indicis podrien donar sentit a la relació del CPFm, en general, i el CIL, en particular, amb la conducta de ingesta no homeostàtica, la recerca de recompensa i la transferència de condicionament clàssic a operant (Selleck i Baldo, 2017; Warthen et al., 2016; Keistler et al., 2015).

Finalment també cal destacar que l'estat basal dels animals d'investigació també provoca diferències en els resultats dels tractaments provats. En el estudi de Mehdipour et al. (2016), l'activació experimental del CPL només millorava l'aprenentatge en rates amb historial d'addicció, no així en els subjectes sans.

(c) Modulació dels receptors NMDA i processos d'aprenentatge i memòria: la D-cicloserina

En la llarga trajectòria global d'investigació en el camp de les neurociències s'han dirigit molts i variats esforços per entendre millor el funcionament dels dèficits cognitius derivats de malalties neurodegeneratives, traumes o envelliment; i en aquesta línia, la literatura al respecte de nous i prometedors mètodes terapèutics ha pres un protagonisme necessari. La societat actual, així com el panorama sanitari immediatament pròxim ens indiquen que la població mundial gaudeix i gaudirà d'una esperança de vida prou llarga com per canviar dràsticament la demografia de pràcticament tots els països. Així doncs es preveu un notable augment del nombre de ciutadans/es en etapa de senectut, i s'espera que la prevalença de malalties associades a aquest envelliment augmenti de manera paral·lela (Mendiola-Precoma et al. 2016; Van Cauwenberghe et al., 2015). Llavors la urgència sanitària estratègica davant d'aquest panorama es basa en la prevenció o pal·liació dels símptomes, així com la millora en la qualitat de vida de la població sana o afectada per algun dels trastorns cognitius esmentats.

Revisant les últimes publicacions ens podem adonar de la gran quantitat d'enfocaments diferents alhora de proposar noves estratègies terapèutiques. Per una banda, es proven compostos neuroprotectors com l'Etidronate en models animals de demència vascular per provar l'efecte beneficiós d'aquest fàrmac sobre la Potenciació a llarg Termini (PLT), l'estrès oxidatiu, la transmissió sinàptica i l'apoptosi, aportant millores en aprenentatge i memòria (Li et al., 2016); les progestines i el seu prometedor efecte antiinflamatori (Giatti et al., 2016); la optimització de la funció mitocondrial en les neurones mitjançant el Piracetam (Stockburger et al., 2016); l'ús de inhibidors de l'activitat PERK per evitar l'acumulació de plaques senils entre les neurones (Rozpędek et al., 2016); l'eficàcia de incrementadors de la densitat sinàptica com el MMFS-01 (component que conté L-TAMS, el qual augmenta els nivells de magnesi en el líquid cefaloraquídi) per tractar deficiència cognitiva associada a l'edat (Liu et al., 2016; Li et al., 2014; Slutsky et al., 2010); així com dues aproximacions molt interessants analitzant derivats d'herbes presents en la natura: l'àcid asiàtic (procedent de la *Centella asiatica*) amb significatius efectes sobre la memòria de treball i la capacitat de discriminar objectes en rates, probablement degut al augment dels nivells de proteïnes doblecortina i Notch 1 al hipocamp i els seus comprovats efectes neuroprotectors en cultius cel·lulars gràcies a les seves propietats antioxidants (Sirichoat et al., 2015); o per altra banda la Calotropis procera (procedent del làtex sec), capaç de revertir els efectes amnèsics de l'escopolamina o el shock electroconvulsiu en rates., fins aconseguir reduccions del nivell d'acetilcolinesterasa i beta amiloide 1-42 i augments en els nivells de dopamina i en els resultats d'evitació passiva i laberint de Morris (Malabade i Taranalli, 2015).

Una altra aproximació interessant per millorar l'eficàcia dels efectes positius dels tractaments consisteix en combinar l'administració d'aquests o emparellarlos amb teràpies cognitiu conductuals, explorant així la possibilitat d'esbrinar sinergies terapèutiques. És el cas dels estudis amb ratolins transgènics de Kim et al. (2016), que tot i no trobar evidències de sinergies, explora l'ús combinat d'un químic reductor d'amiloide i el Donepezil, un inhibidor de l'acetilcolinesterasa (potenciador cognitiu), o el cas dels estudis de Sartori et al. (2016) que després de comprovar l'efecte combinat de varis fàrmacs han pogut descobrir que la l'administració de D-cicloserina (DCS) post-extinció i de Neuropeptid S pre-extinció permet mantenir l'aprenentatge d'extinció durant més temps, s'evita la reinstauració de la por, permetent així sessions d'exposició menys aversives i més eficaces. També resulta interessant afrontar els desequilibris propis de la malaltia de manera directa, com suggereix Jha et al. (2016), en els que es planteja dirigir els esforços terapèutics en restablir els nivells de neurotransmissors i neuromoduladors que han quedat alterats per culpa de les toxines beta amiloides i els nivells de proteïna TAU.

Un altre interessant plantejament és el que ofereixen els estudis dedicats a comprovar l'efecte de fàrmacs inicialment dissenyats com a teràpies per a altres trastorns. Per exemple, el *Hypericum Perforatum*, un tractament indicat per tractar la depressió, té efectes positius en la memòria de referència i de treball en animals sans o estressats (Ben-Eliezer i Yechian, 2016), o l'efecte neuroprotector en el hipocamp que els pacients amb trastorn bipolar experimenten amb el tractament amb liti (Quartini et al., 2016). Altres fàrmacs, com el metilfenidat (indicat per TDAH), tot i tenir efectes directes sobre l'atenció, un procés cognitiu clau per l'aprenentatge, es veu afectat per masses factors aliens al fàrmac com per ser considerats possibles potenciadors cognitiu (Chu et al., 2016).

Sense cap mena de dubte, un dels enfocaments més interessants en la recerca de aproximacions terapèutiques és la que duen a terme els equips de científics que exploren els beneficis terapèutics de certs compostos continguts en productes alimentaris. D'aquesta manera es pot dissenyar tractaments menys aversius i més econòmics que fàcilment poden complementar els efectes d'una teràpia farmacològica convencional o un tractament cognitiu conductual. En aquesta línia s'ha pogut contrastar el beneficiós efecte de la curcumina, el compost més important de la cúrcuma, i es presenta com un interessant reductor de plaques beta amiloide, un potenciador cognitiu, un antioxidant, un anticàncer, un antiinflamatori i un tractament contra l'Alzheimer i el Parkinson (McClure et al., 2017; Khatri & Juvekar, 2016; Akinyemi et al. 2017). També s'ha constatat el potencial terapèutic de extractes de diferents fruits (Kang et al., 2017; Uddin et al. 2016; Mansouri et al., 2016), del  $\beta$ -glucan (Haider et al., 2016) i el gingseng (Tan et al., 2015). No obstant no s'han trobat efectes tan contundents en la cafeïna (Heilbronner et al., 2015; Cappelletti et al., 2015), la vitamina B<sub>12</sub> (Kwok et al., 2016) o el Omega3 (Knöchel et al., 2015).



Noves teràpies poden sorgir després de replantejaments en la metodologia de investigació. És el cas de la proposta de Gyertyán (2017) que després de criticar la validesa interna i externa dels estudis d'investigació bàsica i la poca eficàcia dels fàrmacs clínics en els darrers anys, engresca a dirigir els futurs esforços en reproduir models animals de dèficit cognitiu més específics per tal de fer-los més equivalents als dels humans i així tractar cada funció cognitiva de manera més clara, alhora que proposa estudiar els patrons dels estudis anteriors. Prèviament Kim et al. (2015) ja varen testar proves de rendiment per humans per avaluar l'atenció en diferents trastorns adaptades a rosegadors. Les proves eren tan sensibles que la tasca mostrava diferències significatives en funció de la soca genètica dels subjectes. També en humans es fan esforços en plantejar millores en la metodologia, com és el cas de Hofmann et al. (2015) que consideren que la manera d'obtenir millor eficàcia de l'administració de DCS en una teràpia d'exposició per eliminar la por s'ha de dissenyar un algoritme personalitzat de l'ús del fàrmac per a cada pacient, doncs l'efectivitat final depèn molt de l'èxit obtingut en les sessions d'exposició anteriors.

Finalment, altres estratègies terapèutiques proposades recentment consisteixen en restablir els nivells òptims de neurotransmissors per tal pal·liar els efectes de les malalties neurodegeneratives. En aquest sentit, s'han plantejat tractaments colinèrgics (Shang et al., 2016; Stoiljkovic et al., 2016), dopaminèrgics (Colzato et al., 2016) i glutaminèrgics (Buschler & Manahan-Vaughan, 2016; Yan et al., 2015; Datusalia i Sharma, 2016), entre d'altres.

## 1. Estructura de receptors NMDA

El glutamat (Glu), és el principal neurotransmissor excitatori de l'encèfal i la medul·la espinal (sistema nerviós central), i juntament amb el neurotransmissor GABA és un dels primers en desenvolupar-se al llarg de filogènesis de les espècies. En el cervell, el glutamat s'acopla i actua sobre varis transportadors i receptors localitzats en les membranes neuronals (Traynelis et al., 2010), i també en cèl·lules gials (Parpura i Verkhratsky, 2013). Existeixen quatre tipus de receptors glutamatèrgics, tres dels quals són ionotròpics: els receptors NMDA, que descriurem més endavant; els receptors AMPA, són els més comuns i tenen un perfil excitador postsinàptic al controlar un canal de sodi; i els receptors kainat, amb una acció similar als receptors AMPA. Per altra banda, també existeixen un quart grup de receptors, els receptors metabotròpics glutamatèrgics (mGlu), el qual està format per fins a set tipus diferents, alguns d'ells de tipus presinàptic (Traynelis et al., 2010; Paoletti et al., 2013).

Els receptors esmentats, al mostrar generalment papers clau en la modulació positiva de l'activitat de les estructures on es troben implicats, i tenint tanta presència en el SNC, podem inferir que també prenen un rol molt valuós en

el correcte funcionament de les capacitats cognitives i conductuals dels subjectes, ja sigui mitjançant l'enfortiment de sinapsis, la sinèrgia amb altres neurotransmissors o creant un entorn favorable per la correcta consecució de les oscil·lacions cerebrals esperades. Així doncs, els investigadors han posat a prova la relació de cada un d'aquests receptors glutamatèrgics amb diferents àmbits cognitius, i la manera experimental de dur a terme aquestes aproximacions sovint consisteix en reforçar o dificultar l'activitat òptima d'aquests receptors. D'aquesta manera, l'administració de moduladors al·lostèrics per als diferents receptors o l'administració d'altres fàrmacs, alguns amb potencial terapèutic, ens permeten esbossar la finalitat de cada un d'aquests receptors (Fallon et al., 2007), o fins i tot esbrinar si aquesta pot canviar en funció de la seva distribució en el cervell.

Els receptors AMPA mostren una clara relació amb funcions cognitives, com és el cas del seu paper en el nucli accumbens durant la maduració de les sinapsis que permeten l'associació fàrmac-context en un experiment amb administració de cocaïna (Shukla et al., 2017), o actuant co-activament amb els receptors NMDA en les neurones dopaminèrgiques per tal d'augmentar la freqüència final de dispar (Zakharov et al., 2016). Pel que fa a la cognició, els receptors AMPA juguen un paper important en la conservació dels records espacials quan es troben al hipocamp, i en el bloqueig de la recuperació espontània de la por després de l'aprenentatge d'extinció quan es troben en l'escorça infralímbica (Migues et al., 2016), també ha quedat demostrat en varies ocasions que els moduladors al·lostèrics positius dels receptors AMPA poden facilitar la potenciació a llarg termini (PLT) i la depressió a llarg termini (DLT) en funció de l'àrea del encèfal estudiada (van Beugen et al., 2014), actuar com a possibles tractaments com a potenciadors cognitius (Bretin et al., 2015; Partin, 2015), o fins i tot mostrar un perfil antidepressiu i ansiolític (Andreasen et al. 2015; Zanos et al. 2016, Kiselycznyk et al. 2015).

Els receptors kainat aporten una funció facilitadora a múltiples nivells de l'escorça, especialment en escorça entorrinal, la qual té un paper important en la formació d'oscil·lacions cerebrals (Chamberlian et al., 2012).

Els receptors metabotròpics del Glutamat són molt diversos i amb perfils funcionals molt àmplis, i la seva distribució, en les diferents regions, així com la seva localització postsinàptica o presinàptica determinen la naturalesa de la seva activitat o la seva interacció amb l'activitat d'altres receptors. Els receptors mGlu1 estan implicats en l'augment d'excitabilitat cel·lular, modulant la neurotransmissió sinàptica, i els estudis amb la intenció d'esbrinar el potencial terapèutic mostren que els antagonistes dels receptors mGlu1 poden actuar com a ansiolítics i antidepressius i els moduladors al·lostèrics positius (MAPs) es proposen com a prometedors tractaments contra els símptomes cognitius de l'esquizofrènia (Lesage i Steckler, 2010), Els bloquejadors dels receptors mGlu1 també poden ser un bon tractament per millorar la memòria social afectada en els models animals d'esquizofrènia induïts per l'administració de MK-801 (antagonista no competitiu dels receptors NMDA) (Hikichi et al., 2013), mentre que

l'estimulació dels receptors mGlu1 pot actuar com a tractament anticonvulsiu sobre el tàlem i el còrtex (D'Amore et al., 2015). Per altra banda, els receptors mGlu2 i mGlu3, que sovint es consideren un grup de receptors (grup II), estan implicats en la formació d'aprenentatge per depressió a llarg termini (DLT), especialment en les interneurons colinèrgiques de la via tàlem-cortical (Johnson et al., 2017), també la seva estimulació s'esbossa com una potencial aproximació terapèutica per revertir els dèficits cognitius associats a la esquizofrènia (Copeland et al., 2015; Hikichi et al., 2013; Marek, 2010). El grup II és susceptible d'interactuar amb l'activitat de la serotonina en el còrtex prefrontal, influenciant sobre la funció cognitiva i la psicosis (Wischhof i Koch, 2016). En canvi, estudis més específics d'aquests receptor ens permeten reconèixer el poder antidepressiu dels antagonistes dels receptors mGlu2 (Millan et al., 2016) i el gran protagonisme dels receptors mGlu3 com els majors reguladors de l'activitat en còrtex prefrontal (funció executiva i cognició) (Walker et al., 2015). Per altra banda, les àrees terapèutiques que proporcionen la manipulació dels receptors mGlu5 són l'esquizofrènia (reconeixement d'objectes nous i interaccions socials), la demència, l'epilepsia, les convulsions en tàlem i còrtex, la cognició, l'abús de drogues, la depressió i el síndrome de fràgil X (Lindsey i Stauffer, 2013; Wierońska et al., 2015; Ellard et al., 2015; D'Amore et al., 2015; Millan et al. 2016; D'Amore et al., 2014; Horio et al., 2013; Stefani i Moghaddam, 2010; Homayoun i Moghaddam, 2010; Vales et al., 2010), també mostren capacitat per activar les cascades senyalitzadores ERK i mTOR i la fosforilació sostinguda de p70s6 kinasa per tal de generar PLT (potenciació a llarg termini) (Hullinger et al., 2015); mentre que en tasques més complexes els MAPs de mGlu5 no són capaços de pal·liar els efectes de dèficit cognitiu induït per l'administració de MK-801 (Lins i Howland, 2016) i el seu efecte pot veure's afectat pel tipus de antagonista NMDA usat en el experiment (Gastambide et al., 2013). Finalment, el receptor mGlu7, que és el receptor presinàptic autoreceptor més estès, mostra la major conservació evolutiva i regula l'alliberació de L-glutamat i GABA, en funció del tipus de neurona en la que es trobi situat, per tal de preservar la funcionalitat normal del SNC i té un paper important en l'ansietat, l'aprenentatge d'extinció de la por, l'aprenentatge aversiu, la memòria espacial i la resposta hormonal al estrès (O'Connor et al., 2010); la seva modulació negativa altera els resultats cognitius espacials i no espacials (Johansson et al., 2015; Hikichi et al., 2010), i els seus agonistes tenen un potencial perfil terapèutic contra la depressió (Millan et al. 2016).

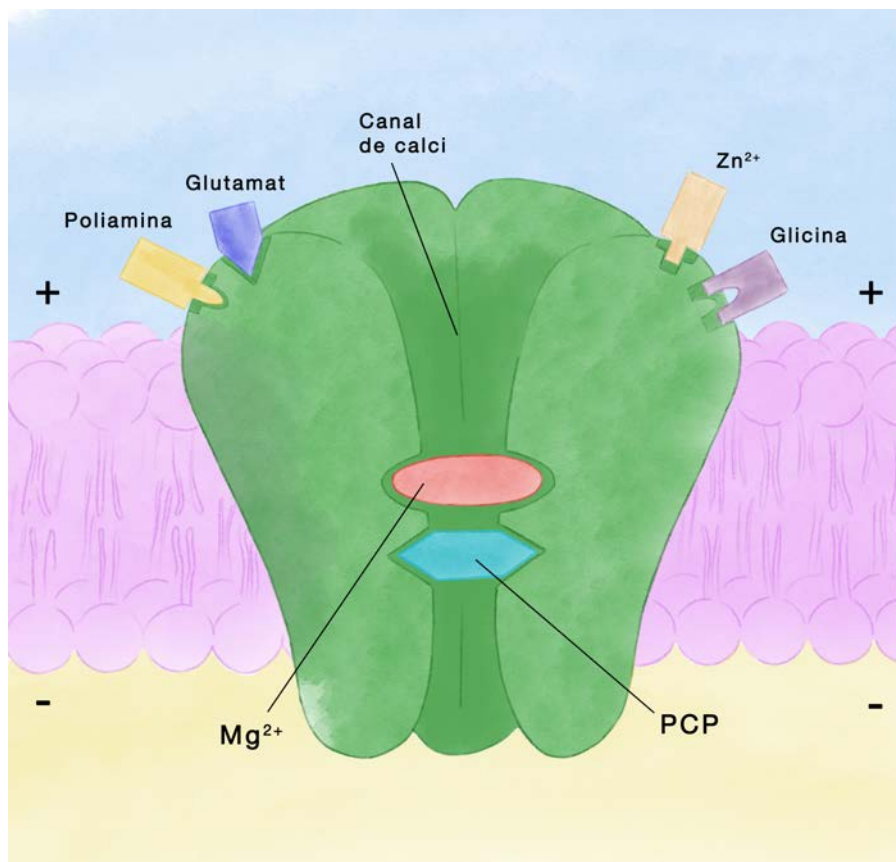
Els receptors NMDA (rNMDA) han mostrat tenir varis papers importantíssims en àmbits de tipus cognitiu, doncs la seva activació resulta un poderós precursor de la potenciació a llarg termini (PLT), com va comprovar Collingridge et al. (1983b) a les sinapsis de les neurones piramidals de CA3 i CA1 de l'hipocamp. L'entrada de calci que succeeix després de l'activació dels rNMDA inicia la fosforilació de la kinasa depenen de calmodulina (CaMK) i de la proteïna a la que s'uneix el element de resposta al AMP cíclic (CREB), i estimula la regulació a la baixa de la transcripció gènica, requerida en la PLT; i la senyalització del calci també regula la depressió a llarg termini

(DLT) (Miyamoto, 2006; Feldman, 2012). L'activació dels rNMDA hauria de millorar la cognició, i així és sota certes circumstàncies (Tang et al., 1999), però això suposaria un error de generalització. Cal tenir en compte que una activació excessiva dels rNMDA pot comportar conseqüències negatives, llavors es tracta d'una "activació patològica". Estudis com els de Parsons et al. (2007) hipotetitzen que una sobre-activació dels rNMDA pot portar als dèficits cognitius propis de la mort neuronal, i fins i tot poden esdevindre una causa per la simptomatologia de la malaltia d'Alzheimer. D'aquesta manera, l'activació sostenible d'aquests receptors es converteix en el objectiu de les teràpies, és a dir, perseguir l'estimulació òptima, "activació fisiològica", i evitar una activació aberrant. Així doncs una correcta estimulació dels receptors NMDA proporciona un bon funcionament de la memòria de reconeixement i respostes conductuals adaptatives a les situacions d'estrès (Trevlopoulou et al., 2016), memòria de treball natural (Scheidegger et al., 2016), i en general un bon estat neuro-socio-cognitiu (Sasaki et al., 2015; Hardingham i Do, 2016). No obstant, tornant a la malaltia d'Alzheimer, Lin et al. (2014) recullen varies evidències a favor de la hipòtesis que aquesta malaltia i altres demències de tipus senil que cursen amb pèrdua de memòria i declivi cognitiu i motor estan estretament relacionades amb la reducció de la PTL depenent de rNMDA en el hipocamp, la disminució en l'expressió de la subunitat NR1 dels rNMDA al hipocamp ventral i les escorces entorrinal i postrinal, la disminució en l'expressió de la subunitat NRA2 en la regió parahipocampal i la disminució de la densitat de rNMDA. Així doncs, els pacients de Alzheimer mostren nivells baixos de Glu en el líquid cefaloraquídi i el teixit cerebral mortem, un menor nombre de terminacions de Glu al hipocamp, baixos nivells de D-serina (agonista endogen dels rNMDA) i baixos nivells de MK-801 (antagonista dels rNMDA). Probablement per aquest motiu, la veracitat de la hipòtesis que relaciona el dèficit cognitiu amb la hipofunció dels rNMDA pot veures compromesa, doncs també s'ha remarcat que els antagonistes NMDA proposats com a fàrmacs neuroprotectors han resultat fracassar (Lin, et al., 2014).

Els receptors NMDA són heterotetramers, això significa que estan formats per quatre subunitats. Aquestes poden ser GluN1, amb fins a 8 possibles variacions sorgides de les combinacions en la transcripció d'un sol gen; GluN2, de tipus A a D; i GluN3, amb dos possibles variacions A i B. Cada subunitat GluN està composta de 4 dominis: un domini amino-terminal implicat en l'associació de subunitats, el domini d'acoplament dels agonistes format per dos segments (S1 i S2), un domini transmembrana format per tres hèlix M1, M3 i M4 i una hairpina M2 que formen el porus selectiu d'ions, i el domini citoplasmàtic carboxi-terminal implicat en les interaccions proteïna-proteïna que determinen el transit (focalització de membranes, difusió lateral, estabilització i reciclatge)(Mothet et al., 2015). Això suposa que hi ha un gran nombre de rNMDA amb configuracions diferents, amb propietats distingudes i situats a parts diferents del cervell al llarg dels diferents estadis del desenvolupament (Molnár, 2008). En ells s'úneix el L- glutamat, però també dos aminoàcids neutres endògens, la glicina i la D-serina, i la presència de un o l'altre conjuntament al glutamat és necessària per

l'activació del rNMDA. Per una banda, els llocs d'unió de la glicina es troben a les subunitats GluN1 i a GluN3, mentre el lloc d'unió del glutamat sempre és a la subunitat GluN2. Per tant, cal que totes les subunitats estiguin activades per generar el correcte funcionament del receptor (Fig.4). Zhou i Wollmuth (2017) proposen diferents aproximacions d'investigació alhora d'estudiar les subunitats dels receptors NMDA, ja que la composició i energètica de cada un poden aportar patrons d'activació diferents. D'aquesta manera una subunitat concreta pot estar íntimament relacionada amb un o varis aspectes conductuals per sobre dels altres, com es el cas de la subunitat GluN2, la qual es clau en cognició, percepció i esquizofrènia (Sapkota et al. 2016), o veure's afectada de manera específica per les circumstàncies externes, com es el cas de la privació del son que regula a la baixa les subunitats GluN1 i GluN2B, però no ho fa sobre la GluN2A, desembocant en un deteriorament de la cognició espacial (Xie et al., 2016).

Per altra banda, cal tenir en compte que el canal dels receptors NMDA es bloqueja fàcilment pels cations de magnesi ( $Mg^{2+}$ ), fins i tot a concentracions baixes (Ault et al. 1980). Una despolarització prou gran redueix aquest bloqueig i llavors la participació dels rNMDA en la resposta postsinàptica pren rellevància (Collingridge et al., 1988). Aquesta despolarització mínima pren el nom de despolarització de Hebb o Hebbiana, i és la precursora de la plasticitat sinàptica posterior perquè assegura que el canal del rNMDA esdevingui permeable als cations de calci ( $Ca^{2+}$ ).



**FIGURA 4.** Esquema simplificat de receptor NMDA amb els seus agonistes principals i bloquejadors del canal de calci.

## 2. rNMDA i plasticitat sinàptica

Els receptors NMDA tenen un paper crític en els processos cognitius, doncs la seva activació esdevé un precursor de la potenciació a llarg termini (PLT)(Collingridge et al. 1983a; Rebola et al. 2010). Per altra banda, també resulta rellevant destacar que, en les rates, la disminució del nombre d'aquests receptors en el cervell durant l'envelliment pot explicar alguns dels dèficits cognitius associats a l'edat (Barnes 1979; Wenk & Barnes 2000), i que en les rates amb major capacitat d'aprenentatge s'observa un augment dels rNMDA (Stecher et al. 1997). Per tant, resulta factible plantejar que un tractament que millori la transmissió sinàptica en les que estan implicats els rNMDA pot millorar les capacitats cognitives d'un subjecte sa o fins i tot revertir els efectes negatius de l'edat o les lesions. No obstant, l'activació sobre els rNMDA induïda en tal tractament ha de ser l'òptima, ja que un excés podria provocar mort neuronal (Simon et al. 1984), epilèpsia (Croucher et al. 1982) o hiperalgèsia (Davies & Lodge 1987). També cal tenir en compte que la simple alliberació de neurotransmissors i agonistes dels receptors NMDA, així com la presència i bon funcionament d'aquests últims no són els únics factors en joc per a un correcte funcionament de la sinapsis en qüestió. S'ha pogut constatar que el temps que passen els neurotransmissors en l'espai sinàptic repercuteix en les probabilitats d'esser captats pels receptors o d'acumular prou molècules en el espai sinàptic per a una òptima i duradora activació. Per tant, la plasticitat sinàptica, i el conseqüent rendiment cognitiu poden derivar també d'altres proteïnes amb papers més subtils; com les vesícules transportadores de glutamat (VGluT), encarregades de retornar les partícules de glutamat al interior de les neurones presinàptiques. En la majoria dels casos una disminució del nombre d'aquestes vesícules suposa una major activitat sinàptica, facilitant un activació postsinàptica més intensa y duradora. D'aquesta manera s'ha pogut comprovar com rates amb dèficit cognitiu associat a l'edat mostraven una regulació a la alça de les VGluT de tipus 1 i 2 (Ménard et al., 2015), i de VGluT1 en models d'acumulació de  $\beta$ -amiloide (Timmer et al., 2014) o en models de dèficit de memòria de reconeixement (Li et al., 2015). No obstant una regulació a la baixa de VGluT de tipus 1 i 2 suposa un desequilibri en la transmissió sinàptica que pot associar-se a dèficit cognitiu i als símptomes de l'esquizofrenia (Piyabhan i Wetchateng, 2013; 2015; King et al., 2014). En aquesta mateixa línia hi ha una gran quantitat de proteïnes vinculades a la transmissió sinàptica que poden tenir efecte sobre les capacitats cognitives dels subjectes, doncs sovint regulen aspectes importants en la plasticitat sinàptica (recaptació i fusió de vesícules en la membrana, exocitosis, estructures de la membrana postsinàptica, etc). La regulació a la baixa o la reducció en la densitat d'aquestes proteïnes (sinaptofisina, sinaptopodina, sinaptotagmina, neurogranina, etc) poden resultar bons indicatius preclínics per evaluar la progressió de demència frontotemporal i Alzheimer (Reddy et al., 2005; Goetzl et al., 2016) o el dèficit cognitiu resultant d'una hemorràgia subaracnoïdea (Chen et al., 2013). En canvi, una regulació a l'alça desemboca en símptomes menys consistents, com per exemple la facilitació

de la plasticitat sinàptica i cognició espacial posterior a l'augment de sinaptofisina presinàptica posterior a un tractament amb estimulació magnètica transcranial (Shang et al., 2016), o el deteriorament cognitiu associat a l'edat que pot tenir com a una de les seves possibles causes l'augment de la proteïna sinaptotagmina de tipus 1 en el hipocamp dorsal (Chen et al., 2007). La PSD-95, una proteïna estructural postsinàptica clau en la senyalització postsinàptica, en canvi, no mostra un paper tan clar en la cognició, ja que estudis relacionen la seva regulació a l'alça com un índex del deteriorament cognitiu degut a l'edat (Preissman et al., 2012), i altres relacionen tals símptomes amb la manca de PSD-95 (Wakade et al., 2010).

La regulació de l'activitat dels rNMDA pot donar-se per components que actuen de manera indirecta, interactuant amb altres proteïnes que després regularien l'acció del rNMDA; o de manera directa, acoplant-se als rNMDA.

### Components indirectes

Els moduladors al·lostèrics positius dels receptors AMPA (MAP rAMPA) indueixen la PLT probablement degut a la potenciació indirecta dels rNMDA (Stäubli et al. 1994b), com s'ha demostrat *in vivo* (Vandergriff et al., 2001). La sumació temporal de PEPs mediada pels receptors AMPA faciliten parcialment la despolarització Hebbiana que es dona en la PLT (Collingridge, 1985; Knafo et al. 2012). Així doncs els MAPs rAMPA milloren l'aprenentatge i la memòria (Stäubli et al. 1994a).

Per altra banda, l'activació sobre els receptors GABA durant la transmissió de baixa freqüència suposa una hiperpolarització que facilita el bloqueig de  $Mg^{2+}$  dels rNMDA (Herron et al. 1985; Dingledine et al., 1996). Els receptors  $GABA_A$  s'activen ràpidament, mentre els receptors  $GABA_B$  ho fan amb un retard d'uns 20 mil·segons, però proporcionen una hiperpolarització més llarga (Davies et al., 1990). Ambdós combinats redueixen l'activació dels rNMDA durant més temps. Llavors, bloquejant ambdós tipus de receptors GABA s'aconsegueix millorar l'activació sinàptica dels rNMDA (Davies i Collingridge, 1996). En la transmissió sinàptica de baixa freqüència, els antagonistes  $GABA_A$  permeten una notable activació dels rNMDA (Herron et al., 1985; Dingledine et al., 1986), però en freqüències altes de transmissió l'efecte és major (Abraham et al. 1986). El bloqueig selectiu dels receptors  $GABA_B$  evitaria la generació de PIPs i suposa una millora en la inducció de PLT (Olpe et al., 1993). Els receptors  $GABA_B$  també poden ser presinàptics actuant com autoreceptors, inhibint l'alliberació de GABA (Davies et al., 1990); o heteroreceptors, inhibint l'alliberació de glutamat (Davies et al., 1993; Isaacson et al., 1993). Una correcta transmissió de alta freqüència provoca una alta activitat dels autoreceptors que suposaria la supressió de PIPs, facilitant així la despolarització de Hebb. En aquestes condicions, els antagonistes  $GABA_B$  sobre els autoreceptors dificultarien la PLT (Davies i Collingridge, 1993).

En general l'activació dels receptors d'acetilcolina potencia la plasticitat cerebral depenent de rNMDA (Sarte i Parickh, 2005). La despolarització que produeixen els receptors muscarínics d'acetilcolina (rmACh) també faciliten la despolarització de Hebb que desbloqueja els canals dels rNMDA. Una concentració baixa d'agonistes lleus dels rmACh pot ser suficient per afectar l'activitat dels rNMDA (Harvey et al. 1993). No obstant, els rmACh també poden deprimir l'activitat postsinàptica dels rNMDA mitjançant la internalització d'aquests últims (Jo et al, 2010).

Els receptors metabotrópics de tipus glutamatèrgic també poden actuar com a reguladors indirectes dels receptors rNMDA. Un bon exemple d'aquests casos són els receptors mGlu1 i mGlu5, ja que la seva activació potencia la despolarització de les neurones de CA1 prèviament induïda pels rNMDA, treballant conjuntament per la inducció de la PTL (Bortolotto et al., 2005; Lanté et al., 2006). Els antagonistes de mGlu5 bloquegen la PTL en el gir dentat i empitjoren el rendiment en el laberint radial (Manahan-Vaughan i Braunewell, 2005), mentre els moduladors al·lostèrics positius dels receptors mGlu5 faciliten l'activació dels rNMDA (Vinson i Conn, 2012; Nickols i Conn, 2014), milloren la PTL (Ayala et al., 2009; Kroker et al., 2011), incrementen la flexibilitat comportamental en un paradigma de context canviant (Darrah et al., 2008), millora el reconeixement d'objectes nous i redueix la impulsivitat en un test de temps de reacció de 5 respostes possibles (Liu et al., 2008); també reverteixen els dèficits cognitius induïts per l'antagonista dels receptors NMDA, MK-801 (Valls et al., 2010) i millora els dèficits d'aprenentatge en els models d'esquizofrenia generats per àcid metilazoximethanol (MAM)(Gastambide et al., 2012).

### Components directes

Els antagonistes dels rNMDA poden resultar potenciadors cognitius sota certes circumstàncies ja que evitarien "l'activació patològica" descrita anteriorment, conservant "l'activació fisiològica". En un experiment simple s'obtenia una activació aberrant dels rNMDA eliminant artificialment el  $Mg^{2+}$  dels canals, inhibint la PTL (Coan et al., 1989). El compost AP5, un antagonista competitiu específic dels rNMDA, pot restablir la capacitat d'induir PTL. Durant l'estimulació tetànica suficient el glutamat ocupa el lloc que ha cobert l'AP5 i s'activa apropiadament la capacitat d'induir la PTL. Segons Frankiewick i Parsons (1999) el mateix fenomen succeiria amb la memantina, un fàrmac amb un modest efecte sobre la malaltia d'Alzheimer, retardant el declivi cognitiu (Danysz i Parsons, 2003; Collinngridge et al. 2013). Per altra banda, augmentar la concentració de  $Mg^{2+}$  també pot evitar una activació excessiva dels rNMDA (Sletsky et al., 2010).

El paper co-agonista de la glicina o les substàncies similars a aquesta, com la D-serina, en els rNMDA fou descobert l'any 1987 per Johnson i Ascher, hipotetitzant el seu poder al·lostèric positiu. De fet, la completa activació dels rNMDA requereix de l'acoplament co-agonista en els dos llocs d'unió de la



glicina i en els dos llocs d'unió del glutamat que es troben en el complex tetramèric que compon el receptor NMDA (Benveniste i Mayer, 1991; Clements i Westbrook, 1991). Una mutagènesis de la subunitat GluN1 la determina com el lloc d'acció de la glicina (Kuryatov et al., 1994; Wafford et al., 1995). Les subunitats GluN3 també són activades per la glicina preferentment per sobre del glutamat, per tant un receptor GluN1/GluN3 és eminentment activat per glicina i no requereix de la presència de glutamat (Chatterton et al., 2002; Madry et al., 2007).

Almenys en el sistema nerviós central, fins i tot amb una activitat alta de transportadors de glicina (GlyT-1 en glia, i Glyt-2 en neurones) el lloc d'unió de la glicina no quedava saturat per aquesta. La inhibició d'aquest transportador suposa un augment dels nivells de glicina en l'espai sinàptic i sobre els rNMDA (Supplisson i Bergman, 1997; Berger et al., 1998; Chen et al., 2003; Bergeron et al., 1998; Martina et al., 2004; Stevens et al., 2010), mostrant un augment de la PLT (Martina et al., 2004; Manahan-Vaughan et al., 2008), la cognició en tests de reconeixement social (Shimazaki et al., 2010) i en l'atenció en tasques de context canviant (Nikiforuk et al., 2011). Els estudis preliminars amb pacients de malaltia d'esquizofrenia mostren millores en rendiment cognitiu (Tsai et al., 1998; 2004; Lave et al., 2005; Heresco-Levy et al., 1996). Les revisions realitzades per Cioffi i Guzzo (2016), exploren els mecanismes subjacents al funcionament del transportador de glicina GlyT-1, i posen especial èmfasis en la potencialitat terapèutica dels diferents inhibidors de GlyT-1 que s'han estudiat o encara són objecte d'estudi. Ja hem fet menció de la capacitat dels inhibidors de GlyT-1 per augmentar els nivells d'activitat dels receptors NMDA, però aquests fàrmacs també són capaços de produir la internalització o regulació a la baixa dels receptors NMDA o la regulació a la baixa de GlyT-1 i a l'alça de GlyT-2, donant com a resultat mecanismes compensatoris que evitarien l'excitotoxicitat i proporcionarien un perfil neuroprotector (Nong et al., 2003; Pinto et al., 2015). Els estudis clínics o preclínics de l'ús terapèutic dels inhibidors de GlyT-1 han mostrat resultats molt prometedors com a anticonvulsius (Kalinichev et al., 2010; Shen et al., 2015), com a tractament complementari per el trastorn obsessiu compulsiu (Hoffman-LaRoche, 2015) i la conducta adictiva (Molander i Soderpalm, 2005; Molander et al., 2005), contra el dolor (Nong et al., 2003), contra l'amplia simptomatologia de la malaltia de Parkinson (Heresco-Levy et al., 2013) i per millorar la sociabilitat i la memòria de treball espacial dels pacients amb autisme (Burket et al., 2015).

La D-serina, la qual no actua sobre el lloc d'unió de la glicina de tipus inhibitori, proporciona vies d'exploració per obtenir tractaments enfront dèficits cognitius. L'administració de D-serina exògena mostra capacitat per generar PLT, quan la glicina no arriba a ocupar tots els seus llocs d'unió (Oliver et al. 1990; Bashir et al., 1990; Watanabe et al. 1992; Duffy et al., 2008). En canvi, la D-serina endògena, sintetitzada en els astròcits per la serina racemasa (SR), un enzim que catalitza la conversió de L-serina a D-serina, a partir de la L-serina i la glicina, resulta útil per la PLT i la DLT (Yang

et al., 2003, 2005; Mothet et al., 2006; Henneberger et al., 2010; Fossat et al., 2012). L'envelliment o una deficiència gènica poden comportar una disminució del nivell de D-serina endògena i la conseqüent reducció del PLT i l'aparició de problemes de memòria, efectes que poden ser revertits mitjançant l'administració de D-serina exògena (Mothet et al., 2006; De Vito et al., 2011). Una estratègia alternativa per augmentar la D-serina en l'espai sinàptic és inhibir l'enzim que la catabolitzava, el D-amino àcid oxidasa (DAAO). Ratolins mutants sense DAAO mostren augment de la PLT a l'hipocamp i milloren el seu rendiment en el laberint aquàtic de Morris, comparat amb ratolins normals (Maekawa et al., 2005). No obstant, la inhibició de la DAAO no implica resultats molt destacables, doncs no produeixen un augment significatiu del nivell de D-serina en l'espai sinàptic (Smith et al., 2010), exceptuant en el cerebel o l'hipocamp sota ritmes theta (Stricker et al., 2011).

La D-serina i la glicina són co-agonistes dels receptors NMDA que comparteixen el mateix lloc d'unió, no obstant mostren lleugeres diferències d'afinitat (Le Bail et al., 2015) Mentre la D-serina mostra preferència per acoplar-se als complexos heterodimèrics GluN1/GluN2A, més presents dins les sinapsis (implicats en PLT i supervivència neuronal); en canvi, la glicina s'uneix amb major facilitat als receptors NMDA de tipus GluN1/GluN2B, localitzats principalment fora de la sinapsis (implicats DLT i facilitació d'apoptosis)(Chao i Li, 2014; Chen et al., 2008; Choo et al., 2012; Parsons i Raymond, 2014; Liu et al., 2004). Per aquest motiu la D-serina té un paper més rellevant en les sinapsis Schaffer Colateral-Hipocamp CA1, doncs les sinapsis entre aquestes estructures pateixen un procés de maduració progressiu de substitució de GluN2B per GluN2A al llarg de les tres primeres setmanes postnatal. La glicina en canvi, mostra un paper més rellevant en estructures com el gir dentat, on les sinapsis immadures són més susceptibles a la neurogènesis en individus adults. Això ens pot indicar que la presència d'un o l'altre co-agonista pot modificar l'expressió gènica d'una subunitat en els receptors i generar així grups funcionals basats en la distribució anatòmica de la síntesis i alliberació d'aquests co-agonistes. Per una banda, la glicina s'allibera mitjançant Asc-1, la qual també actua com a proteïna transportadora per a convertir la L-serina en glicina. En canvi, la glicina glial s'allibera per la inversió del transportador GlyT-1. La síntesis de la D-serina també deriva de la L-Serina, però requereix de l'acció de l'enzim SR. No obstant, la reducció de la L-serina no afecta de la mateixa manera la presència dels dos co-agonistes. La D-serina sembla conservar els seus nivells amb major facilitat, suggerint diferents dipòsits de L-serina per a cada agonista (Safory et al., 2015). Probablement per aquests motius la reducció de D-serina sembla tenir un major efecte negatiu sobre les estructures CA3/CA1 del hipocamp, el còrtex frontal, el nucli supraòptic i el nucli accumbens, en comparació a la reducció de la glicina, amb efectes més dèbils. S'ha pogut comprovar com els subjectes envellits mostren una expressió més dèbil de SR, això suposa una reducció de la D-serina i pot donar lloc a un dèficit en la potenciació a llarg termini. La glicina en canvi, no sembla estar implicada en el mecanisme que explica el dèficit cognitiu

vinculat a l'edat, i tampoc té efecte compensatori sobre les estructures esmentades, ja que aquestes mostren una afinitat reduïda a la glicina degut a una baixa densitat de subunitats GluN2B en els receptors NMDA (Mothet et al., 2015). Així la D-serina també està implicada en els símptomes amnèsics de la epilèpsia del lòbul temporal. I la seva reducció (per depleció de SR) pot donar lloc a simptomatologia de l'esquizofrènia; un pretext que ens pot indicar que la D-serina, el benzoate i l'inhibidor de la DAAO millorarien els símptomes cognitius i negatius de l'esquizofrènia. Per aquest motiu la D-serina ha estat provada com a teràpia contra l'esquizofrènia i la malaltia de Parkinson amb resultats molt prometedors (Tsai et al., 1998; Gelfin et al., 2012).

Cal tenir en compte que el lloc d'unió dels co-agonistes en els receptors NMDA és també l'objectiu de àcid kynurenic, un antagonista endogen que deriva del triptòfan, per tant un inhibidor d'aquesta substància facilitaria l'acoblament de la D-serina i la glicina, esdevenint un bon enfocament terapèutic (Schwarcz et al., 2012).

Les poliamines endògenes, com és el cas de la espermina, potencien l'activitat dels agonistes en els rNMDA. Aquesta potenciació pot ser glicina dependent, voltatge dependent o independent de la glicina i el voltatge (Williams, 1997; Traynelis et al., 1995 i Williams, 1994a).

La Pregnanolona i l'Al·lopregnanolona, com la progesterona, potencia l'acció dels receptors GABA amb mínims efectes inhibitoris sobre els receptors NMDA. El sulfat de pregnanolona inhibeix els receptors GABA i els NMDA, mentre que el sulfat de pregnenolona (PS) potencia fortament la funció dels rNMDA i inhibeixen l'activitat gabaèrgica. El PS ha mostrat tenir efectes de millora en l'aprenentatge i la memòria (Floof et al., 1992; Mayo et al., 1993, i per si sol és capaç d'induir potenciació de llarga durada (PLD) de l'eficàcia sinàptica a les cèl·lules granulars (Chen et al., 2007), aquesta inducció de PLD desplaça la corva a l'esquerra en la inducció de DLT i PLT (Chen et al., 2010). Els nivells de PS endògen disminueixen amb l'edat, en paral·lel al declivi cognitiu (Flood et al. 1995; Vallee et al., 1997). El baix rendiment en el laberint de Morris pot ser revertit per l'administració de PS exògena (Vallee et al., 1997). El PS també redueix els efectes amnèsics de l'estrès (Reddy i Kulkarni, 1998) i milloren la cognició en pacients esquizofrènics (review de Marx et al., 2011).

El sulfat de Dehidroepiandrosterona (DHEAS), sintetitzada per ell mateix a partir del PS, també potencia l'activitat dels rNMDA i millora la PLT (Randall et al., 1995; Chen et al., 2006). Lògicament, la inhibició de la síntesi de PS i de DHEAS en les capes hipocampals redueix la funció dels rNMDA i la inducció de PLT (Tanaka i Sokabe, 2012).

La Histamina potencia els efectes estimulants dels agonistes en els receptors NMDA que contenen subunitats GluN1/GluN2B (Williams, 1994b). Aquest efecte només es dona sota concentracions altes d'agonista i no passa si la subunitat GluN1 conté el exó 5 insertat.

El trifosfat d'adenosina (ATP) inhibeix els rNMDA de tipus GluN1/GluN2A o GluN1/GluN2B a baixes concentracions d'agonista, però sota concentracions saturades d'agonista l'ATP actua com a potenciador (Kloda et al., 2004). Per altra banda, l'ATP potencia els rNMDA formats per GluN1/GluN2C fins i tot en concentracions no saturades d'agonista.

Un dels principals enfocaments per esbrinar el paper dels receptors NMDA en processos cognitius i en el comportament en general ha sigut i segueix essent la investigació bàsica amb animals, especialment aquella que prova les capacitats dels subjectes simulant de manera artificial una condició de dèficit. D'aquesta manera, mitjançant l'administració de substàncies que s'uneixen directament als rNMDA i perjudiquen el seu normal funcionament es pot deduir el seu rol en el rendiment que ofereix l'animal. Així doncs, antagonistes dels rNMDA comportaran una regulació cortical del Glu per sota d'allò esperat, en detriment dels processos d'aprenentatge i memòria (Maurice et al. 1994; Moghaddam et al. 1997; Parada-Turska & Turski 1990). Per exemple, fàrmacs com la ketamina, la dizocilpina (MK-801), la fenciclidina o l'àcid D,L-2-amino-5-fosfonoalèrgic (APV) administrats sistèmicament provoquen dèficits cognitius reflexats en diversos tipus de tasques. Aquest tipus de bloqueig en els rNMDA té efectes negatius en la memòria de treball, la inhibició conductual i l'atenció (Kawabe et al. 2007; Jentsch et al. 1997, 1998; Murphy et al. 2005; Pozzi et al. 2011; Verma & Moghaddam 1996); l'aprenentatge de memòria implícita (Smith et al. 1997; Zimmerman et al. 2010; Ranaldi et al. 2011; Carmack et al. 2013); aprenentatge espacial o relacional (Murphy et al. 2005; Patel et al. 1998; Roberts & Shapiro 2002; Cestari i Castellano 1997; Morris 1989; Liang et al. 1994; Packard i Teather 1997; McDonald et al. 2005); i aprenentatges olfactoris i memòria social (Stäubli et al. 1989; Storozheva et al. 2011; Gao et al. 2009).

### 3. D-cicloserina: composició, principis actius i tractaments

En el moment de plantejar-se l'augment de l'activitat dels receptors NMDA per tal de potenciar les capacitats cognitives, o bé revertir els efectes causats per algun tipus de dèficit cognitiu vinculat a les vies glutamatèrgiques, diversos investigadors opten per no modificar els nivells de Glu de manera artificial, doncs encertadament consideren que la millor manera d'obrir els canals dels rNMDA és mitjançant la modulació positiva a través de l'administració d'algun tipus de co-agonista, així s'evita una sobreexcitació amb efectes tòxics (Jansen i Dannhart 2003; Monahan et al. 1989; Henderson et al. 1990). El lloc d'unió de la glicina sembla ser una bona diana per aquest propòsit.

La DCS, D-4-amino-3-isoxazolidona, un producte natural de *Streptomyces orchidaceus* i de *Streptomyces garyphalus*, és un agonista parcial dels rNMDA que actua en el lloc d'unió de la glicina amb un efecte agonista notable a baixes dosis (Hood et al. 1989; Normann i Berger 2008), i antagonista a dosis altes (Schade i Paulus, 2016). Prèviament fou usat com a medicament antibiòtic efectiu contra la tuberculosi (des de 1950), però sempre com a segona elecció. En humans, la seva vida mitja en el organisme és d'unes 10 hores i s'excreta per via renal (Hofmann et al., 2006; Peloquin, 2008). S'ha observat efectes secundaris com somnolència, cefalea, confusió, psicosis, tremolors extrapiramidals, vertigen, dificultats de memòria, parestèsies i convulsions. En humans, i només sota dosis prou altes per travessar la barrera hematoencefàlica (BHE) s'ha observat psicosis i epilèpsia, hiperexcitabilitat, depressió, ansietat, entre d'altres (Walker i Murdoch, 1957; Vallade, 1959; VanBerckel et al., 1997; Goodman et al., 2001; Peloquin, 2008).

Els efectes agonistes de la DCS a baixes dosis reflecteixen la seva acció agonista sobre els receptors NMDA de tipus NR1/NR2C, amb els que té molta afinitat, mentre a dosis altes els efectes poden ser degut a la inhibició antagonista dels NR1/NR2A i els NR1/NR2B, pels quals la DCS mostra poca afinitat (Danysz i Parsons, 1998). Els receptors NR1/NR2C s'expressen principalment en les estructures cerebelars, però també en estriat, hipocamp, bulb olfactori, còrtex retrosplenial, tàlem, pont i nuclis vestibular (Karavanova et al., 2007).

La DCS s'ha estudiat nombroses vegades des de la perspectiva de valorar el seu potencial com a tractament efectiu en diverses circumstàncies en les que intervé l'aprenentatge i la memòria.

### Extinció i reconsolidació de la memòria

S'ha pogut comprovar en estudis preclínics en humans que la DCS combinada amb teràpies conductuals d'exposició componen un tractament efectiu sobre els trastorns d'ansietat (Hofmann et al. 2013; Hernández et al., 2012). Aquest fenomen pot ser degut a l'efecte de millora de la DCS sobre l'aprenentatge d'extinció de la resposta de por (Vervilet, 2008; Norberg et al., 2008). Aquest aprenentatge es defineix com la reducció del nivell de por mostrat (resposta condicionada, RC) davant d'un estímul condicionat (EC), el qual és aparellat prèviament a un element aversiu (estímul incondicionat, EI), quan es mostra repetides vegades en absència del estímul aversiu presentat amb anterioritat. La resposta de por és mesurada a través de la conducta de petrificació i l'augment de la resposta d'ensurt. Ambdues conductes disminueixen la seva presència i intensitat al llarg d'un procés d'aprenentatge d'extinció davant de la presentació d'EC (sense EI). Es tracta d'un procés actiu d'aprenentatge per inhibir la RC, la qual no desapareix fàcilment amb el simple pas del temps.

Myers & Davis (2007) i altres investigadors han confirmat el important paper dels rNMDA en el aprenentatge d'extinció. No obstant, la notorietat de l'efecte de la DCS sobre l'aprenentatge d'extinció pot variar en funció de la via d'administració, el moment d'administració i el tipus de tasca avaluada (Taula 3). Com es pot apreciar resulta clau el moment d'administració, doncs si aquesta es realitza post-extinció es produeix una millora en la consolidació d'aquest aprenentatge; no obstant, l'administració prèvia a l'extinció ofereix resultats poc consistents, fenomen probablement donat per les diferències en el nombre d'assajos d'entrenament emprats en cada estudi.

MODELS ANIMALS			
MOMENT	ADMINISTRACIÓ	RESULTAT	AUTORS
<b>Condicionament de la resposta de por associada a un estímul</b>			
30' pre 20' pre	Sistèmic ABL	↑ Extinció	Walker et al. 2002
15' pre	Sistèmic	↑ Extinció = Renovació	Woods & Bouton 2006
30' pre	ABL	↑ Extinció	Mao et al. 2006
20' pre	Sistèmic ABL	↑ Extinció ↑ Reconsolidació	Lee, Milton & Everitt, 2006
15' pre	Sistèmic (+metirapona)	↑ Extinció	Yang et al. 2007
Immed. pre	Sistèmic	↑ Extinció = Re Extinció	Langton & Richardson 2008
30' pre	Sistèmic	↑ Extinció	Lin et al. 2010
15' pre / 15' post 1' post	Sistèmic ABL	↑ Extinció	Ledgerwood et al. 2003
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció = Reaprenentatge ↑ Generalització	Ledgerwood et al. 2005
Immed. post Immed. pre i post 2 o 28 dies pre	Sistèmic Sistèmic Sistèmic Sistèmic	↑ Extinció = Extinció ↑ Extinció = Extinció	Parnas et al. 2005
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció = Re Extinció	Weber et al. 2007
30' pre 10' post 24h post	Sistèmic Sistèmic Sistèmic	↑ Reconsolidació ↑ Extinció ↑ Extinció	Bustos et al. 2010
Immed. pre	Sistèmic	= Extinció	Langton & Richardson 2010
Immed. post	Sistèmic	↑ Retenció extinció	McCallum et al. 2010
40' pre Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Toth et al. 2012
20' pre	Sistèmic	↑ Extinció en animals amb estrès ↓ Extinció en animals sans	Saito et al. 2013
10' pre	HPC	↑ Extinció ↑ rNMDA2B a l'HPC	Ren et al. 2013
pre	Sistèmic	↑ Extinció	Saridógan et al. 2015

<b>Condicionament de la resposta de por associada al context</b>			
15' pre Immed. pre	Sistèmic Sistèmic	↑ Extinció	Bouton et al. 2008 Myers & Carlezon 2010
15' pre 30' pre	Sistèmic/ABL ABL	↑ Reconsolidació ↑ Extinció	Yamada et al. 2009
Immed. post	ABL	Reverteix deficit en extinció induït per estrés	Akirav et al. 2009
6 dies durant	Sistèmic	Reverteix deficit en extinció induït per estrés Reverteix augment de RNMDA a l'HPC	Yamamoto et al. 2008
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Bertotto et al. 2010
30' pre	Sistèmic	↑ Extinció ↑ GABA a ABL	Lehner et al. 2010
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció ↑ pERK al CPFm	Gupta et al. 2013
<b>Preferència pel lloc associat amb alcohol/cocaïna/morfina o autoadministració</b>			
60' pre	Sistèmic	↑ Extinció	Vengeliene et al. 2008
Immed. pre Durant	Sistèmic Sistèmic	= Extinció ↓ Recondicionament	Groblewski et al. 2009
30' pre Immed. post	Sistèmic Sistèmic	↑ Extinció ↓ Recondicionament	Nic Dhonnchadha et al. 2010
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Kelley et al. 2007
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Paolone et al. 2009
Immed. post	Sistèmic ABL	↑ Extinció	Botreau et al. 2006
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Thanos et al. 2009
20' pre	ABL	↑ Reconsolidació	Lee et al. 2009
Immed. pre	Sistèmic	↑ Extinció	Myers & Carlezon 2010
Immed. post	Sistèmic Nucli Acc ABL, HPC, CPL	↑ Extinció ↑ Extinció = Extinció	Torregrossa et al. 2010
Immed. pre	CIL	= Extinció	Chang & Maren 2011
20' pre	Sistèmic	= Extinció	Lu et al. 2011
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Thanos et al. 2011
<b>Conducta reforçada amb menjar/sucrosa</b>			
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció	Shaw et al. 2009
60' pre	Sistèmic	= Extinció	Flavell et al. 2011
30' pre	Sistèmic	↓ Extinció	Port & Seybold 1998
15' pre	Sistèmic	= Extinció	Vurbic et al. 2011
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció en C57BL/6 mice	Leslie et al. 2012
Immed. post	CIL	↑ Extinció	Peters & De Vries 2013
<b>Conducta d'aversió al menjar</b>			
Immed. post	Amígdala	= Extinció	Akirav et al. 2009
Immed. post	Sistèmic	↑ Extinció ↓ Recuperació espontània	Mickley et al. 2012

<b>TERÀPIES EN HUMANS</b>		
<b>MOMENT</b>	<b>RESULTAT</b>	<b>AUTORS</b>
<b>Fòbies</b>		
2h pre	↑ Teràpia d'exposició (acrophobia) manteniment de la millora 3 mesos després	Ressler et al. 2004
Pre i post	= Tractament aracnofòbia	Guastella et al. 2007a
1h pre	↑ Tractament fòbia social	Hofmann et al. 2006 Guastella et al. 2008
2h pre	= Extinció a la por condicionada	Guastella et al. 2007b Klumpers et al. 2012
1h pre	↑ Teràpia en el trastorn del panic ↑ Activació cortex prefrontal ventromedial, orbitofrontal i cingulate anterior	Otto et al. 2010 Nave et al. 2012
Post	↑ Tractament exposició	Smits et al. 2013
Post	= Tractament aracnofòbia	Tart et al. 2013
<b>TEPT/TOC</b>		
30' pre	= o ↓ Extinció ↑ Simptomatologia ↑ Tractament	Litz et al. 2012 Choi et al. 2010
30' pre	= Extinció	Rothbaum et al. 2014
<b>TOC</b>		
1h pre	↑ Tractament (dosis altes cap efecte)	Storch et al. 2010
2h pre	↑ Tractament (teràpia d'exposició)	Kushner et al. 2007
<b>Dependència a drogues</b>		
2h pre	= Extinció en dependència alcohol	Watson et al. 2011
15' pre	= Extinció en dependència cocaïna ↑ <i>Craving</i>	Prisciandaro et al. 2013
1h pre	↑ Tractament en extinció en dependència nicotina	Santa Ana et al. 2009
15' pre	= extinció en dependència cocaine ↑ <i>Craving</i>	Price et al. 2009 Price et al. 2013
1h pre	= tractament terapia cognitiva conductual per síndrome abstinència cocaïna	Kennedy et al. 2012

**Taula 3.** Efectes de l'administració sistèmica o intra ABL de DCS en l'extinció i la reconsolidació de diverses tasques en animals i de l'administració sistèmica de DCS en el tractament de diverses patologies en humans [↑ millora, ↓ empitjora, = no efecte, ABL: amígdala basolateral, Acc: nucli accumbens, HPC: Hipocamp, CPL: còrtex prelímbic, CIL: còrtex infralímbic, pre: abans de l'entrenament en extinció, post: després de l'entrenament en extinció, Immed: Immediat, TEPT: trastorn per estrés posttraumàtic, TOC: trastorn obsessiu compulsiu].

En l'aprenentatge d'extinció entren en joc diferents estructures cerebrals com el còrtex sensorial, la substància grisa periaqueductal, el septal lateral i els nuclis de l'estria terminal. Però les regions amb més literatura són l'amígdala, el CPF i l'HPC (Myers i Davis 2002). La primera esdevé crítica en l'adquisició de respostes condicionades de por, així com en la seva extinció. D'altra banda, el CPFm, concretament el CIL i el CPL, degut a la seva relació amb l'ABL (McDonald 1998) també participen en l'extinció; mentre el l'HPC està implicat en l'aprenentatge associat al context (Myers i Davis 2007;



Myers i Davis 2002). Una de les raons per la qual l'administració de DCS millora l'extinció pot ser l'augment que produeix en l'expressió de la subunitat GABA-A alpha-2 en els receptors gabaèrgics, així com l'augment en la concentració de GABA a l'amígdala (Lehner et al. 2010; Wislowska-Stanek 2011), facilitant l'aprenentatge inhibitori. Per altra banda l'increment de rNMDA a l'HPC suposaria canvis en la plasticitat cerebral propis de l'adquisició d'un nou aprenentatge (Ren et al. 2013). També en la Taula 3 s'enumeren alguns dels pocs estudis realitzats sobre els efectes de la DCS intracerebral en aprenentatge apetitiu. En termes generals la DCS podria millorar l'extinció d'aquestes tasques (Botreau et al. 2006), però també hi ha estudis amb resultats contraris com els Torregrossa et al. (2010), en el qual només hi ha efectes administrant DCS sobre el *core* del nucli accumbens (NAc). Aquest fenomen podria ser degut al ús de la mateixa dosi per a totes les regions estudiades. Finalment, observant els estudis de consum de drogues amb subjectes humans podem deduir que el tipus de teràpia i el moment d'administració de la DCS són claus, doncs si aquesta s'executa abans de la teràpia d'exposició no millora l'extinció i fins hi tot s'augmenta el *craving* (desig de consum) a la droga (Hofmann et al. 2012; Prisciandaro et al. 2013; Price et al. 2013; Price et al. 2009).

En canvi, el procés de reconsolidació resulta més sensible a modificacions de la memòria en el moment que es dona una reactivació breu d'aquesta. Els assajos de reactivació són molt similars als de l'entrenament d'extinció, però la seva durada i nombre són inferiors (Sara et al. 1999). La reconsolidació també depèn dels rNMDA (Lee i Everitt 2008) i com mostren diversos experiments la DCS injectada a l'amígdala basolateral (ABL) o de manera sistèmica abans de la reactivació millora la reconsolidació del condicionament de la resposta a la por (resposta de petrificació) (Lee et al. 2006; Yamada et al. 2009; Bustos et al. 2010) i de l'addicció a la cocaïna (Lee et al. 2009). Quan la sessió d'extinció del tractament conductual és breu el procés de reconsolidació es manté dominant. Sense exposicions llargues, l'extinció no es desenvolupa i l'administració de DCS pot augmentar la reconsolidació de la por. Fins i tot, si el nivell de por és elevat i el nombre de sessions d'extinció no són suficients els pacients DCS milloren menys que els pacients placebo (Hofmann, 2015).

Hofmann (2015) recull importants aspectes sobre l'acció de la DCS com a tractament de combinació alhora de tractar desordres d'ansietat. Per una banda, la DCS, més que amplificar els efectes positius del tractament cognitiu acceleraria els seus resultats, intensificant la percepció de millora per part del propi pacient i afavorint la seva adhesió i manteniment al tractament conductual. A llarg termini, la DCS i el placebo no es distingeixen significativament. També destaca que els estudis amb animals mostren efectes de millora sobre l'aprenentatge d'extinció quan l'administració de DCS es fa de manera aïllada, i no crònicament, ja que els rNMDA podrien dessensibilitzar-se, la DCS actuar com antagonista i suposar una inhibició en el procés d'aprenentatge final, o fins i tot patir una regulació a la baixa (Saridógan et al. 2015; Schade i Paulus, 2016). Les dosis grans tampoc

comporten una major acció de la DCS i a vegades pot ocupar subunitats diferents del receptor, actuant com antagonista. Així doncs, els pitjors resultats s'observen en els estudis amb administracions elevades de DCS i/o repetides. De fet, la DCS principalment actua com un fort agonista als receptors NMDA que contenen les subunitats GluN2C, però sota certes circumstàncies poden esdevenir antagonistes dels rNMDA que contenen subunitats GluN2B (Goff, 2017).

### Adquisició i consolidació de la memòria

Altres estudis han pogut mostrar com l'administració de manera sistèmica de DCS abans de l'adquisició millora l'adquisició i la consolidació d'alguns aprenentatges en subjectes animals, ja sigui en tasques de tipus espacial (Riekkinen & Riekkinen 1997; Pussien & Sirviö 1999; Lelong et al. 2001), de reconeixement d'objectes (Zlomuzica et al. 2007), de condicionament clàssic (Curlik i Shors 2011) o tasques d'evitació passiva (Land i Riccio 1999). L'administració sistèmica postentrenament de la DCS potencia la consolidació en el laberint elevat (Rodgers et al. 2011; Wu et al. 2008). Altres estudis d'administració sistèmica de DCS en animals s'enumeren a la Taula 4. Finalment, també amb animals, els estudis de Villarejo-Rodriguez et al. (2010) observen que l'administració de DCS al CPL afavoreix la retenció de l'aprenentatge en una tasca de discriminació olfactiva; i fins i tot pot arribar a revertir el efectes negatius del tractament amb escopolamina en la mateixa tasca (Portero-Tresserra et al., 2013) o en la tasca de transmissió social de preferència alimentaria (Portero-Tresserra et al., 2014), mitjançant el manteniment de la PLT.

Les investigacions amb humans sans també apunten resultats positius, doncs Kalisch et al. (2009) comprovà que l'administració de DCS pre-aprenentatge d'una tasca de memòria de tipus declaratiu suposa una significativa millora en l'adquisició d'aquest aprenentatge i augmenta l'activitat hipocampal, mentre que l'administració del fàrmac després de l'adquisició d'un condicionament de por millorava la consolidació d'aquest.

MOMENT	ADMINISTRACIÓ	RESULTATS	AUTORS
<b>Laberint aquàtic de Morris</b>			
pre	Sistèmic	= Adquisició ↑ Activitat conductual	Pitkänen et al. 1995
pre	Sistèmic	↑ Adquisició	Riekkinen et al. 1997
pre	Sistèmic	↑ Adquisició	Lelong et al. 2001
pre	Sistèmic	= Adquisició	Sunyer et al. 2008
<b>Laberint Radial</b>			
pre	Sistèmic	↑ Adquisició ↑ Retenció	Pussinen i Sirviö 1999
<b>Laberint en Y</b>			
pre post	Sistèmic	↑ Atenció ↑ Iltu de la memòria	Hughes 2004
<b>Discriminació visual</b>			
pre	Sistèmic	↑ Adquisició	Matsuoka i Aigner 1996

<b>Condicionament de la por</b>			
post pre	Sistèmic	↑ Retenció	Flood et al. 1992 Land i Riccio 1999
durant	Sistèmic	= Consolidació	Yamamoto et al. 2008
pre	Sistèmic	↑ Adquisició tasca HPC depenent	Thompson et al. 1992
<b>Condicionament amb menjar/aigua</b>			
post	Sistèmic	↑ Consolidació ↑ Recuperació	Quartermain et al. 1994
pre	Sistèmic	↑ Adquisició = Reversió	Golden & Houpt 2007
pre	Sistèmic	↑ Adquisició	Nunnik et al. 2007 Davenport i Houpt 2009 Land & Riccio 1999
post	Sistèmic	↑ consolidació extinció latent	Gabriele i Packard 2007

**Taula 4.** Efectes de l'administració sistèmica de DCS en l'adquisició i la consolidació de la memòria en diferents tasques en animals. (↑ millora, ↓ empitjora, = no efecte, pre: abans de l'entrenament, post: després de l'entrenament, CPL: còrtex prelímbic; HPC: Hipocamp).

### Tractament i reversió de dèficits cognitius

El potencial terapèutic de la DCS s'ha pogut contrastar mitjançant variis estudis amb models animals de patologia neural o manipulant les condicions experimentals dels subjectes per tal de partir d'una línia base d'aprenentatge i memòria afectada negativament (Taula 5).

<b>MANIPULACIÓ</b>	<b>ADMINISTRACIÓ DCS</b>	<b>RESULTATS</b>	<b>AUTORS</b>
<b>Laberint aquàtic de Morris</b>			
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica post lesió	↑ Reversió del dèficit	Temple i Hamm 1996
Lesió de l'àrea septal medial	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit	Riekkinen et al. 1998 a, b
Infusió de lidocaïna a HPC dorsal	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit	Riekkinen et al. 1999
Exposició a toluè	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit ↑ rNMDA2A a l'HPC	Win-Shwe et al. 2010
<b>Laberint radial</b>			
Lesió HPC	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit	Schuster i Schmidt 1992
MK-801 Sistèmica	HPC pre	↑ Reversió del dèficit	Kawabe et al. 1998
Lesions escorça entorrinal	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit	Zajackowski i Danysz 1997
<b>Memòria de treball</b>			
Interleuquina $\beta$ a l'HPC	HPC pre	↑ Reversió del dèficit	Matsumoto et al. 2001
AIDA intra-HPC	HPC pre	↑ Reversió del dèficit	Ohno i Watanabe 1998

Scopolamina a HPC	HPC durant	↑ Reversió del dèficit	Ohno i Watanabe 1996
<b>Reconeixement d'objectes</b>			
Estrès agut	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit	Kart-Teke et al. 2006
Isquèmia	Sistèmica post lesió	↑ Reversió del dèficit	Dhawan et al. 2011
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica post lesió	↑ Reversió del dèficit	Yaka et al. 2007
Estrès agut	Sistèmica	↑ Reversió del dèficit	Philbert et al. 2013
<b>Tasques de condicionament</b>			
Muscímol a l'Amígdala	Amígdala post	↑ Reversió del dèficit	Akirav 2007
Estrès agut	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit ↑ Retenció mascles	Wadell et al. 2010
Privació de son REM	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit	Silvestri et al. 2008
Estrès postnatal	Sistèmica pre/post	↑ Reversió del dèficit extinció ↑ Reversió potencials evocats en CPFm	Judo et al. 2010
Exposició endotoxina	Sistèmica post	↑ Reversió del dèficit = nivells BDNF = rNMDA1 i rNMDA2C	Kranjac et al. 2013
<i>Knockout</i> GluD1	Sistèmica pre	↑ Reversió del dèficit en conducta social ↑ Reversió del dèficit en condicionament de la por	Yadav et al. 2012 Yadav et al. 2013
<b>Tasca de discriminació visual/olfactòria</b>			
MK-801 Sistèmica HA-966 Sistèmica	Intramuscular	↑ Reversió del dèficit	Matsuoka i Aigner 1996
Lesió del PF	CPL pre	↑ Reversió del dèficit	Villarejo-Rodriguez et al. 2013
<b>Escala de severitat neurològica</b>			
Lesió cerebral traumàtica	Sistèmica post lesió	↑ Reversió del dèficit	Adeleye et al. 2010

**Taula 5.** Efectes de l'administració sistèmica i intracerebral de DCS en la reversió de dèficits cognitius en diferents tasques (↑ millora, ↓ empitjora, pre: abans de l'adquisició, post: després de l'adquisició, HPC: hipocamp, PF: nucli parafasciular del tàlem, CPL: còrtex prefrontal, BDNF: Factor neurotròfic derivat del cervell).

En estudis amb administració sistèmica de la DCS s'ha observat reversió dels efectes nocius en les capacitats cognitives de models d'esquizofrènia (Nishikawa 2010), de trastorn obsessiu compulsiu (Albelda et al. 2010), d'autisme (Modi i Young 2011; Otto 2010) i de malaltia de Parkinson (Ho et al. 2011; Pawlak et al. 2012; Schneider et al. 2000); així com revertir els dèficits d'aprenentatge i memòria deguts a l'envelliment (Baxter et al. 1994), la privació del son REM (Silvestri i Root 2008), l'estrès agut (Yamamoto et al. 2008; Wadell et al. 2010), els traumatismes cranioencefàlics (Temple i Hamm 1996, Adeleye et al. 2010) i altres lesions cerebrals (Riekkinen et al. 1998 a,b). Els assajos clínics en humans també mostren eficàcia de la DCS en revertir els símptomes negatius de subjectes adults sans privats de son REM,

pacients esquizofrènics o autistes (Kuriyama 2011; Rosse et al. 1996; Buchanan 2013; Posey et al. 2004). Finalment, l'administració intracerebral de DCS, concretament al CPL, reverteix els dèficits produïts per lesions del PF (Villarejo-Rodriguez et al. 2013), a l'HPC redueix l'efecte nociu del MK-801 (Kawabe et al. 1998) i a l'amígdala redueix els efectes del muscimol (Akirav 2007). En aquests casos, la DCS podria estar facilitant la funció dels rNMDA no només mitjançant l'estimulació directa del lloc d'unió de la glicina, sinó també elevant el contingut de D-serina en la solució extracel·lular (Villarejo-Rodriguez et al. 2013).

### Estudis recents i noves aplicacions de la DCS

Recentment els estudis amb DCS han explorat noves aplicacions terapèutiques, sovint testant l'efecte de la seva administració combinada amb les teràpies cognitiu-conductuals més usades. La majoria d'aquestes investigacions admeten replicació per tal de millorar la seva consistència però són una interessant aproximació en el tractament de trastorn amb difícil cura.

S'ha pogut comprovar com dosis intermitents de DCS en pacients de esquizofrènia produïen una persistent millora dels símptomes negatius de la malaltia, així com milloraven l'aprenentatge implicat en el reforç cognitiu o en les teràpies cognitiu conductuals dirigides a reduir els deliris (Goff, 2016).

Per altra banda, la DCS també s'ha provat en estudis clínics per tal d'ampliar els efectes de la teràpia conductual dirigida a millorar les habilitats socials de nens i nenes amb trastorns del espectre autista. Els resultats no foren significatius, però en les dades brutes i en termes absoluts es percep una millora dels pacients que foren tractats amb combinació de DCS (Urbano et al., 2015; Minshawi et al. 2016).

També amb la intenció d'explorar una via complementaria de tractament s'ha pogut comprovar com l'administració de DCS facilita la teràpia d'exposició per tractar l'anorèxia (Levinson et al. 2015). En aquest cas, el fàrmac podria estar generalitzant els efectes d'aprenentatge que suposa el tractament conductual i facilitant resultats positius (augment de índex de massa corporal).

En un estudi envers l'extinció d'un condicionament apetitiu es va posar prova la capacitat de la DCS de millorar la consolidació de l'extinció com prèviament s'havia demostrat en estudis previs amb condicionament aversiu. El tractament amb DCS fou suficient per reduir significativament la reacció condicionada als estímuls condicionats que anticipaven a l'estímul apetitiu, independentment del context en el que es donava la prova, ja fos en el d'adquisició o en el que es produïa l'extinció. Així doncs la DCS facilita l'extinció de memòries apetitives independentment del context i dificulta que les subjectes tornin a la resposta condicionada en les condicions d'adquisició (Brom et al. 2015). Aquest fenomen podria donar-se per un poc treballat sistema per diferenciar els contextos davant de les subjectes, per una mostra

petita que revelaria les diferències individuals en una resposta poc paradigmàtica (resposta sexual femenina) o la DCS podria estar interferint en la codificació contextual, resultant ser un problema adaptatiu per l'individu.

En un altra perspectiva, i amb la intenció de comprendre millor el funcionament de l'extinció a la por tan estudiada amb anterioritat, Sierra i col·laboradors (2016) parteixen de dues premisses: les lesions en estructures prefrontals impedeixen l'extinció de la por; i per altra banda, la DCS facilita l'extinció de la por. Sobre aquesta base comproven com les lesions del còrtex medial orbitofrontal impedeixen la millora l'aprenentatge que la DCS si proporciona en subjectes sense lesió. Així doncs, es suggereix que els tractaments farmacològics poden dependre en gran mesura del nivell d'activitat cortical, doncs les estructures corticals jugarien un paper crucial en la inhibició de les respostes emocionals i també són el mitjà per l'efecte facilitador de la DCS. Altres estudis també han suggerit que l'acció de la DCS depèn del nivell de consolidació de l'extinció a la por que es dona en el còrtex frontal (Saridogan et al. 2015), doncs el nivell de proteïna GluN1 s'incrementa en el còrtex frontal en els animals experimentals i control després de l'entrenament d'extinció.

Per altra banda, nombrosos estudis han investigat el potencial terapèutic de la DCS en pacients de la malaltia d'Alzheimer. Malauradament la major part d'ells no han proporcionat evidències d'efectes positius del fàrmac (Randolph et al., 1994; Fakouhi et al., 1995, Schwartz et al., 1996; Jones et al., 2002). Només Tsai i els seus col·laboradors (1999) van mostrar millores cognitives en pacients d'Alzheimer tractats amb DCS un cop per setmana.

Finalment, en relació a l'aprenentatge motor els resultats terapèutics de la DCS són poc consistents (Nitsche et al., 2004; Cherry et al., 2014; Nadeau et al., 2014).

## IV. TREBALL EXPERIMENTAL

El treball experimental del present estudi es compon de dos experiments dissenyats amb la finalitat directa de complir amb els objectius plantejats al inici d'aquest document, els quals es corresponen al guió establert per avaluar la hipòtesis de la tesi:

*“La transmissió glutamatèrgica al còrtex prelímbic (CPL) modula els processos d'aprenentatge i memòria, essent capaç de revertir el dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal de la influència del nucli parafascicular (PF) del tàlem sobre l'escorça prefrontal”*

A continuació s'exposen els dos experiments que componen el present treball:

- (b) Experiment 1: Efectes de la inactivació temporal del nucli PF sobre l'adquisició i reversió d'una tasca operant de discriminació visual

### 1. Objectiu experimental

En un inici, i atenent a les necessitats que planteja la hipòtesis, cal establir un model de dèficit cognitiu fiable que s'utilitzarà en el mateix context experimental de la prova final. També d'aquesta manera impliquem l'estructura cerebral susceptible de ser clau en el processament cognitiu de la tasca a realitzar pels subjectes. D'aquesta manera, en aquest experiment s'avaluarà l'efecte de la inactivació temporal del nucli PF del tàlem mitjançant l'administració de muscimol (agonista GABAa), sobre la DVA. S'espera que l'alteració de les aferències talàmiques glutamatèrgiques al CPL, alterant la capacitat d'adquisició de la DVA així com la flexibilitat cognitiva associada a la tasca de reversió posterior.

En un intent d'explorar el nivell de dificultat òptim de la DVA s'ha proposat dos nivells de dificultat en funció del temps d'exposició al estímul visual (disc lluminós encès). Creant així dues durades de l'estímul (500ms i 1000ms) que posaran a prova les capacitats atencionals dels animals. Per altra banda, en funció d'un criteri d'assoliment en les fases d'entrenament de l'experiment l'animal serà igualat en condicions al inici de la prova d'adquisició, i en funció del seu rendiment en aquesta última passarà a la prova de reversió, en la qual la tasca esdevé especialment difícil i implica flexibilitat cognitiva per part del subjecte. Així doncs els animals distribuïts en quatre grups experimentals, basats en la durada del estímul lluminós i l'administració de muscimol (500 PBS, 1000 PBS, 500 MUSCIMOL i 1000 MUSCIMOL), es sotmetran a varies fases experimentals com es descriurà més endavant.

## 2. Materials i mètodes

### i. Subjectes

Vuitanta rates mascle adultes del tipus Wistar procedents del estabulari del nostre laboratori de psicobiologia de la UAB (mitjana d'edat=88,64 dies, DS=7,94; pes mitjà=368,01g, DS=38,55, al començament del experiment) foren individualitzades en gàbies de plàstic transparents (50 x 22 x 14cm), a un temperatura (20-23°C) i una humitat (40-70%) ambientals controlades. Les gàbies es situaven en un cicle de dotze hores de llum i unes altres dotze hores de foscor (s'encenien els llums a les 08:00 a.m.). Les rates gaudien d'accés il·limitat de menjar (Scientific Animal Food & Engineering, Augy, France) i aigua durant els quatre dies d'habitució al contacte amb els experimentadors previ a la cirurgia. Tots els procediments es varen dur a terme complint amb les directrius del consell de la Comunitat Europea per la cura i ús d'animals de laboratori (86/609/ECC) i emparats sota l'autorització de la Generalitat de Catalunya (DOGC 2450 7/8/1997, DARP número de protocol 3046).

### ii. Disseny experimental

L'organització del experiment es pot entendre de manera resumida i esquemàtica (Fig. 5) a través d'un esquema de les etapes per les quals passa cada un dels subjectes experimentals i els períodes de temps estipulats per a les mateixes. En essència es tracta d'un estricte calendari on queden recollides les fases del experiment i el temps màxim del qual disposa l'animal per assolir les tasques abans de ser considerat apte per la següent fase o descartat.

Per ordre, i a grans trets, les etapes a les quals es sotmeten els animals són les següents: separació més *handling*, operació més postoperatori, privació (restricció alimentaria) més habituació al reforç a utilitzar durant la DVA (pellets ensucrats), fases 1 i 2 de entrenament, adquisició de la tasca de discriminació visual atencional (DVA), i DVA revertida (tres nivells de dificultat). A través d'aquestes etapes un animal pot estar en fase experimental entre quatre i 12,4 setmanes (les setmanes són considerades de cinc dies, entre dilluns i divendres).



Pre-experiment	Separació + Handling	Una setmana
	Operació + Post-operatori	Una setmana
	Privació + Habitució	Una setmana
Experiment	Entrenament (Pre-DVA1 i Pre-DVA2)	Una setmana
	Adquisició de DVA Discriminació Visual Atencional	Entre 2 i 15 dies
	DVA revertida	Entre 4 i 27 dies

**FIGURA 5.** Esquema del disseny experimental dels experiments 1 i 2. Setmanes de cinc dies (dilluns a divendres).

### iii. Separació, *handling* i restricció alimentaria

Passats aproximadament tres mesos des del naixement dels subjectes, cada dimarts s'individualitzaven quatre rates sota les condicions exposades en l'apartat "Subjectes". La separació setmanal de quatre rates correspon a la restricció creada pels recursos del laboratori, doncs només es disposava de quatre gàbies experimentals o cambres operants (*Skinner Boxes*) per fer els experiments.

Els tres dies posteriors a la separació els animals van ser manipulats pels investigadors sota la tècnica anomenada *handling*. Aquest procediment consisteix en recollir manualment els animals, treure'ls de les seves gàbies d'individualització y tocar el seu cos (sempre equipats amb guants i bata de laboratori) amb cura i progressiva intensitat per tal que l'animal desenvolupi confiança amb els experimentadors i s'habitui al contacte humà.

A la setmana següent es procedeix a realitzar les cirurgies de implantació de cànules per tal de realitzar les futures microinfusions intracraneals, i també es du a terme un seguiment post-operatori dels animals.

Un cop superada la setmana d'operació i post-operatori, i a fi d'incrementar la motivació dels animals a la ingesta de pellets administrats com a reforç a la *Skinner Box* del experiment, els subjectes varen ser sotmesos a una restricció de menjar. L'objectiu era aconseguir en el lapse de cinc dies que els animals adoptessin una massa corporal entre el 80% i el 85% respecte al

seu pes inicial (sota cap restricció), per facilitar aspectes motivacionals, donat que la DVA és de caire apetitiu. Els dos últims dies d'aquesta setmana (dijous i divendres) els animals passaven per dues fases d'habitució al reforç positiu a utilitzar en la tasca. En la primera (dijous) es col·locava una placa de Petri dins cada una de les gàbies amb deu unitats de les boletes de menjar apetitiu que després seran administrats com a reforç positiu dins les *Skinner Boxes*, d'ara endavant anomenats pellets (45mg; BioServ, Frenchtown, NJ). Es considerava que aquesta habitució havia finalitzat un cop l'animal havia consumit tots els pellets. Si l'animal no consumia els pellets en un lapse de temps de deu minuts es deixava la placa de Petri amb els pellets restants dins la gàbia fins l'endemà. Per altra banda, en la segona habitució (divendres), la placa de Petri, contenint deu pellets era dipositada davant del dispensador de menjar de les *Skinner Boxes*. L'animal era introduït dins la *Skinner Box* adjudicada i s'activava el protocol informàtic d'habitució, el qual consisteix en la simple inactivitat de la *Skinner Box* i el funcionament del llum i soroll ambientals que es mantindrà al llarg de les fases experimentals. El protocol finalitzava després de 60 minuts i l'animal era retirat per tornar a les seves gàbies d'individualització sota la restricció alimentària esmentada.

#### iv. Cirurgia esterotàxica

Els animals foren anestesiats mitjançant una barreja de ketamina (Ketolar, 90mg/Kg) i xilacina (Rompun, 8mg(kg)) i posteriorment sotmesos a una intervenció quirúrgica amb aparell esterotàxic (Stoeling, ST51904 Digital Manipulators Arm, Illinois, USA) per implantar de manera crònica una cànula guia bilateral al nucli PF. Les coordenades esterotàxiques per arribar a aquest nucli van ser: AP, -4,1mm des de bregma; ML, +/-1,0mm des de la línia mitja; i DV, -6,5mm des de la superfície del crani (Paxinos & Watson; 1997). Cada cànula guia bilateral estava composta per dos tubs metàl·lics de 26-gauge que es projectaven 7mm des del pedestal (PlasticOne<sup>®</sup>, Bilaney Consultants GMBH, Germany). Dins els tubs de la cànula guia es va situar *dummy stylets* estèrils (PlasticOne<sup>®</sup>) per evitar l'oclusió dels tubs, i sobre el pedestal de rosca un tap de plàstic per evitar la pèrdua dels *dummy stylets*. Després de la cirurgia, les rates es varen tornar a les seves gàbies d'individualització durant set dies, en els que la rata fou manipulada i pesada diàriament. També cada dia les cànules guia, els *dummy stylets* i els taps varen ser comprovats. Si l'animal no mostrava cap tipus de complicació en aquesta setmana de post-operatori seguidament es sotmetia a la setmana de privació alimentària descrita anteriorment i es distribuïen els subjectes de manera aleatòria en un dels quatre grups experimentals (500 PBS, 1000 PBS, 500 MUSCIMOL i 1000 MUSCIMOL).

#### v. Microinfusió

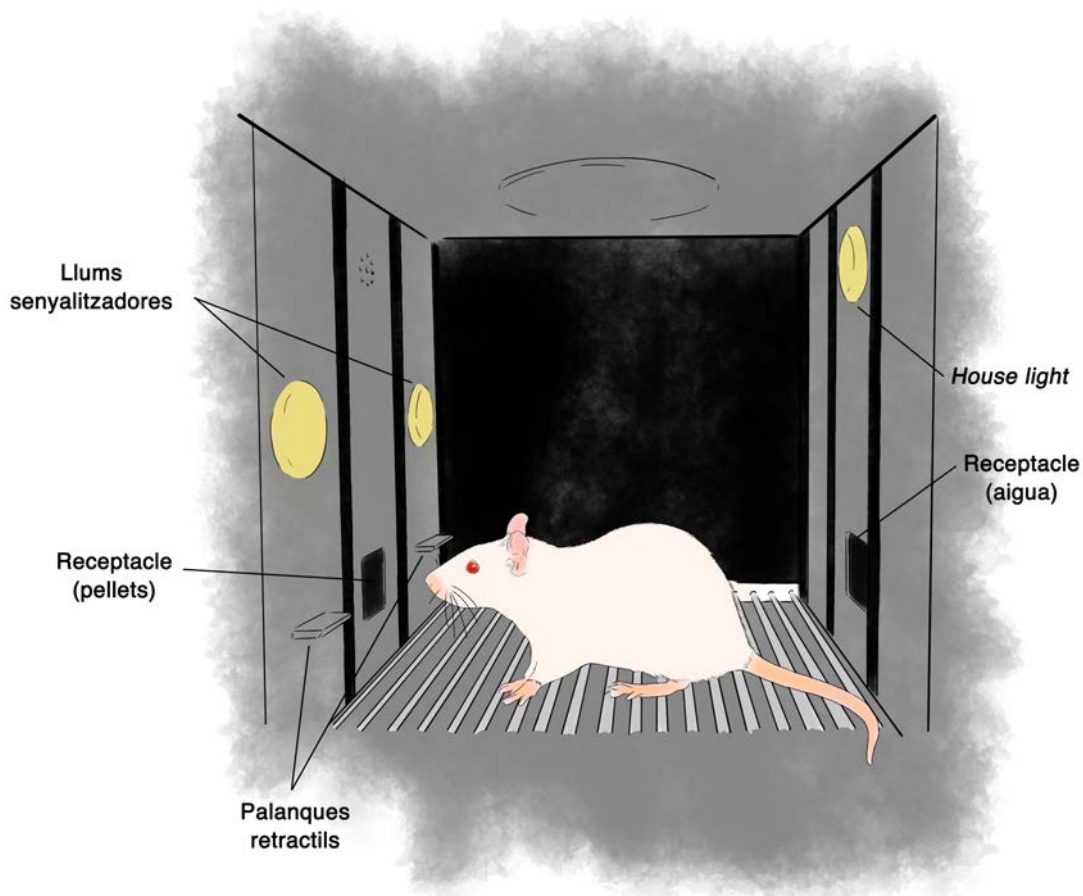
Les rates d'aquest experiment varen rebre infusions de tractament químic (muscimol o PBS) cinc minuts abans de les sessions d'adquisició de DVA i de les sessions de DVA revertida. Amb aquest propòsit els subjectes van ser curosament immobilitzats durant el procediment. Primerament se'ls hi retirava els *dummy stylets* i al seu lloc s'introduïa un doble microinjector d'acer inoxidable de 33-gauge (PlasticOne<sup>®</sup>) d'una llargada de 8mm, per així projectar 1mm fora de la cànula guia. Els microinjectors estaven seguits de dos tubs de polietilè (PlasticOne<sup>®</sup>) connectats a dues xeringues de 10µl (SGE Analytical Science, Cromlab S.L. Barcelona, Spain), les quals estaven muntades a una bomba d'infusió (11 Plus Syringe Pump, Harvard Apparatus Inc., USA). El muscimol (Sigma-Aldrich, Madrid, Spain) es va dissoldre en PBS (Phosphate-buffered saline, tampó fosfat salí, 0,1M, pH 7,4) per obtenir una dosi de 0,6µg/µl. La solució es va infundir bilateralment (simultàniament als dos hemisfèris) amb un volum de 0,15µl/hemisfèri durant 90 segons (0,10µl/hemisfèri per minut). Els microinjectors es varen deixar col·locats durant un minut més després de la infusió per permetre la bona difusió de la solució i evitar un possible reflux en la extracció dels microinjectors. La dosi, volum, moment i durada de la infusió es basen en estudis prèvis (Brown et.al, 2010). Les rates control varen rebre infusions de PBS sota les mateixes condicions.

#### vi. Tasca de discriminació visual atencional (DVA)

La hipòtesis d'aquest treball i els objectius que se'n deriven es posen a prova mitjançant una tasca associativa de tipus operant. Una sort d'aprenentatge pel qual l'animal adquireix el comportament de prémer una palanca, a escollir entre dues, per tal d'obtenir reforç de tipus apetitiu. Per escollir correctament la palanca reforçada caldrà que l'animal atengui a les pistes visuals de tipus lumínic que indiquen la palanca reforçada, sota la dificultat de que aquest estímul visual pot ser de molt curta durada. Abans d'arribar a la fase d'adquisició de la DVA, és a dir, la fase pròpiament experimental, així com les últimes sessions de DVA revertida, l'animal haurà de superar les fases d'entrenament progressiu prèvies a la DVA, amb la intenció que l'animal parteixi d'un nivell mínim de d'assimilació de la tasca i per poder confiar en que treballem amb subjectes presumiblement sota les mateixes condicions cognitives.

La tasca DVA (entrenament, adquisició i reversió) es du a terme dins i mitjançant les cambres operants de tipus *Skinner Box* (25 x 25 x 25 cm; LE 1005CP, PanLab S.L.U.) situades dins cubicles atenuants del soroll exterior (65 x 55 x 50 cm) equipats amb un llum ambiental centrat a l'aresta superior del fons contrari a la porta del cubicle, i un petit ventilador que proporcionava moviment de l'aire i soroll blanc (Fig. 6). Cada cambra disposava de dues palanques retràctils, localitzades a cada costat del receptacle de menjar central on s'ofereix els pellets de reforç, els quals eren

alliberats per un dispensador de pellets situat a l'exterior de la cambra. L'esmentat receptacle pels pellets disposa d'una foto-cèl·lula electrònica a mode de detector de presència del cap de la rata en el moment d'ingesta del pellet del receptacle. Un díode emissor de llum (circular) es troba centrat sobre cada una de les palanques i serveix com a estímul, senyal discriminable en l'aprenentatge. Cada cambra estava il·luminada per un únic llum (igual que els díodes anteriors) centrat a la part superior de la paret contrària al receptacle i les palanques. Aquest tercer llum proporciona informació a l'animal sobre l'estat d'activitat de la cambra (*House light*). Tot aquest equipament d'eines d'investigació conductual que componen les *Skinner Boxes* i la recopilació de dades que proporcionen van ser controlats mitjançant el software Packwin (PanLab S.L.U.).



**FIGURA 6.** Esquema dels elements interns bàsics de les *Skinner Box*.

## vii. Entrenament

La fase d'entrenament de la DVA té dos objectius molt clars: permetre als subjectes iniciar la fase de DVA entenent el funcionament bàsic de les *Skinner Box* havent assimilat l'associació de les conductes de prémer la palanca correcte amb la disposició de reforç.

La fase d'entrenament consta de dues etapes que es realitzen a llarg de la nit (sessions *overnight*, des de les 19:00 fins les 10:00 del dia següent). En la primera, la rata inicia la tasca rebent 15 pellets de manera gratuïta (un cada 5 segons). D'aquesta manera indiquem on l'animal trobarà el menjar dispensat (en el receptacle). A continuació, només una palanca es fa operativa (sur de la paret de la *Skinner Box*), la dreta o l'esquerra de manera aleatòria, i aquesta està il·luminada per l'estímul visual que es troba sobre la palanca activa. La palanca i el llum es troben actius de manera indefinida fins que es dona la resposta de l'animal (prémer la palanca). Després de cada una de les respostes del subjecte la palanca s'endinsa (deixa de ser disponible) i s'administra un pellet. Cada un dels assajos s'inicia 5 segons després de l'administració del pellet reforç. Un cop l'animal ha acumulat un total de 25 respostes, les dues palanques retràctils apareixen al mateix temps, però només una d'elles està associada a una senyal lumínica i per tant associada a un reforç. Una resposta correcte activarà l'administració d'un pellet, com anteriorment; però una resposta incorrecte (prémer la palanca no il·luminada) comportarà 5 segons de *time out*, en els que tots i cada un dels llums de la *Skinner Box* (els de sobre les palanques i el *House light*) s'apagarán, i només quedarà activa la llum ambiental de la cambra d'insonorització i el ventilador. L'objectiu del subjecte és arribar a realitzar 260 respostes correctes. Si ho aconsegueix haurà superat la primera fase del entrenament, i la pròxima nit podrà iniciar la segona fase.

En la segona fase d'entrenament es repeteix l'última etapa de la primera fase. L'animal es troba de nou davant la presentació de dues palanques, i una d'elles senyalitzada amb un estímul visual fins que l'animal respon. La resposta correcte i reforçada és prémer la palanca senyalitzada amb el llum. Aquests assajos es repeteixen fins que l'animal aconsegueix 300 respostes correctes (300 pellets). No obstant, interpretem que s'ha assolit l'aprenentatge només si l'animal proporciona un percentatge de respostes correctes igual o superior al 80% en dues nits consecutives.

Aquestes dues fases d'entrenament nocturnes no poden excedir les cinc sessions (una per nit), i en elles els animals no reben cap tipus de tractament.

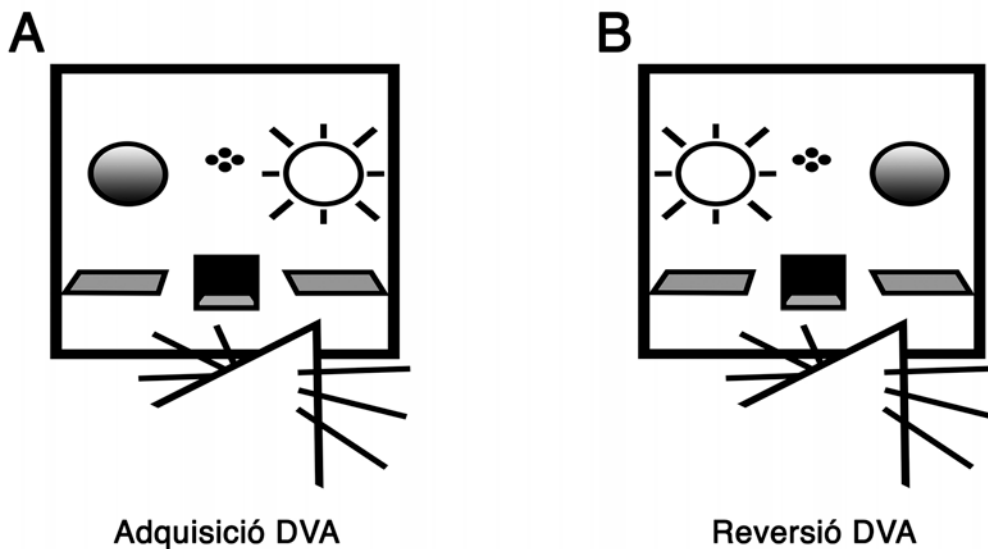
## viii. Adquisició

La setmana següent al entrenament s'inicia l'adquisició de la tasca per aquells animals que hagin superat el criteri d'aprenentatge de l'entrenament (la fase prèvia). El període d'adquisició té una durada màxima de quinze dies distribuïts en tres setmanes: cinc sessions per setmana, una sessió de 40 minuts diària.

Cinc minuts abans de cada sessió l'animal és sotmès al procés de microinfusió descrit anteriorment. En aquest experiment els dos tractaments administrats foren PBS per als animals control i muscimol per als animals experimentals.

Al llarg de les sessions diàries de 40 minuts els animals repetien assajos que s'iniciaven amb la presentació de les dues palanques experimentals acompanyades d'un estímul visual de tipus lumínic situat sobre la palanca reforçada, la dreta o l'esquerra aleatòriament (Fig. 7A). Els animals sotmesos a aquesta tasca han de prémer la palanca senyalada amb l'estímul visual per tal d'obtenir el reforç (pellet). L'activitat lumínica de l'estímul visual té una durada màxima de 500ms o 1000ms depenent del grup experimental: 500 PBS, 500 MUSCIMOL, 1000 PBS i 1000 MUSCIMOL. Després d'una resposta correcte les dues palanques es retrauen i el dispensador de menjar posa un pellet en el receptacle d'ingesta. Cinc segons després s'inicia un nou assaig. En canvi, després d'una resposta incorrecte les palanques es retrauen, no s'administra pellet i la *House light* s'apaga durant cinc segons (període de *time out*). Sempre s'inicia un nou assaig després d'una resposta correcte o incorrecte, fins acabar el temps de la sessió (40 minuts). En aquesta tasca també es considera un nou tipus d'error: els errors d'omissió, els quals s'enregistren quan l'animal no respon durant 15 segons després de la presentació de les palanques. Els errors d'omissió també comporten un període *time out*.

Un cop més, el criteri d'assoliment de la tasca és aconseguir un percentatge de respostes correctes igual o superior al 80% en dues sessions consecutives.



**FIGURA 7.** Esquema simplificat de les contingències de estímulo-resposta-reforç de la tasca d'adquisició de DVA (A) i de la tasca de reversió de DVA (B).

## ix. Reversió

Només les rates que hagin assolit el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició són sotmeses a la tasca de reversió la qual té un màxim de vint-i-cinc sessions sota la mateixa distribució que la tasca d'adquisició. El criteri d'assoliment és el mateix ( $\geq 80\%$  de respostes correctes en dues sessions consecutives) i els grups experimentals no canvien, rebent el mateix tractament crònic i mantenint la durada de l'estímul visual. L'única diferència respecte a la tasca d'adquisició és que l'animal ha de prémer la palanca no senyalitzada amb l'estímul visual per tal d'obtenir el reforç (reversió o *reversal*) (Fig. 7B). Aquesta diferència, després d'assolir l'adquisició representa un repte per als animals en el que es posa a prova la seva flexibilitat cognitiva, per aquest motiu la durada màxima de la tasca de reversió és major. També amb la intenció de facilitar que els animals assoleixin el nou procediment els sotmetem a dues sessions obligatòries prèvies a la reversió esmentada. Aquestes dues sessions són més fàcils. En la primera sessió pre-reversió, la rata no entra en el període de *time out* després d'una resposta incorrecte, i a mode de pista, la llum del estímul es torna a encendre repetidament després de cada resposta incorrecte senyalant la palanca que no ha de prémer l'animal. La insistència de l'animal i la manca d'administració del reforç en les respostes incorrectes suposen un procés d'extinció del aprenentatge previ i conviden a la rata a provar l'altre palanca, obtenint llavors el reforç. En la segona sessió pre-reversió l'animal no entra en període *time out* després d'una resposta incorrecte, però el llum senyalitzador de la palanca incorrecte no es torna encendre si l'animal torna a prémer la palanca incorrecte; llavors només disposa d'un estímul lluminós amb la durada màxima marcada per la pertinença al seu grup experimental. Després d'aquestes dues sessions especials, en la següent sessió s'inicia la tasca de reversió esmentada anteriorment.

## x. Tasca de camp obert

Per provar els efectes del muscimol sobre l'activitat locomotora dels subjectes s'ha utilitzat una tasca de camp obert. L'aparell emprat va ser una superfície circular envoltada d'una paret al llarg del perímetre de la circumferència (50x50x35cm). El terra i la paret de l'aparell eren blancs i il·luminats amb un llum de 300 lx. Cinc minuts després de la infusió (PBS o muscimol) es va avaluar la seva activitat motora horitzontal mitja durant 10 minuts mitjançant un sistema de monitorització (SMART, LEtica, Barcelona, Spain). Es va registrar l'activitat motora en la superfície total i diferenciant les zones interna i externa del camp obert: distància, velocitat i nombre de transicions entre zones.

## xi. Histologia

Un cop superada l'avaluació conductual, les rates foren profundament anestesiades amb una sobredosis de pentobarbital sòdic (Dolethal, Vetoquinol SA, Madrid, Espanya; 200mg/kg i.p.) i varen ser perfusionades transcardíacament amb una solució salina del 0,9% seguida de formalina al 10%. Les cànules guia foren extretes amb cura i el cervells es van postfixar amb la formalina 10% almenys 24 hores. Posteriorment es varen submergir els cervells en una solució de sucrosa al 30%. Un cop els cervells varen absorbir la sucrosa es va seccionar cada un d'ells en talls coronals de 40µm de gruix mitjançant un aparell criòstat (Shandon Cryotome FSE, Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA). Les seccions es van muntar i tenyir amb violeta de cresil, es varen examinar sota un microscopi òptic (Olympus BX41; Olympus Optical CO, LTD, Tokyo, Japó) i finalment es varen microfotografiar (Olympus DP70) les seccions on s'aprecia el lloc on es trobava situada la cànula guia.

## xii. Estadística

Després de completar l'experiment i descartar tots els animals no vàlids (no superen l'entrenament en DVA o l'anàlisi histològic no confirma la correcta col·locació de la cànula guia) ens disposem a realitzar un anàlisi estadístic de les tasques d'Adquisició de la DVA, Reversió de la DVA i camp obert.

Primerament es va realitzar un anàlisi de la supervivència per registrar el grau de rendiment dels subjectes en les tasques de DVA. Seguidament, comparació de mitjanes (One Way ANOVA) per el percentatge de respostes correctes, el nombre de omissions, els errors de palanca, la latència de resposta correcta, la latència de resposta incorrecta, la latència de conducta d'ingesta i la preferència per les palanques; i correlacions de Pearson entre la preferència per prémer una palanca i el rendiment en la tasca (percentatge de respostes correctes). Finalment, en el cas de l'anàlisi estadístic de la prova de camp obert es realitzaran comparacions de mitjanes de les dades enregistrades.

Cal esmentar que degut a la naturalesa d'aquest experiment, l'anàlisi més rellevant i representatiu de l'efecte del factor del grup experimental és l'anàlisi de la supervivència, que en aquest cas s'utilitza per registrar l'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició i de reversió, així com el moment en el que es dona. Cada cop que un animal supera la prova és traslladat a la següent etapa i deixa de registrar dades amb la resta de subjectes. Així doncs la mostra de subjectes es va reduint al llarg de la prova, per tant la resta d'anàlisis estadístics perden força a mida que es succeeixen les sessions experimentals.



### 3. Resultats

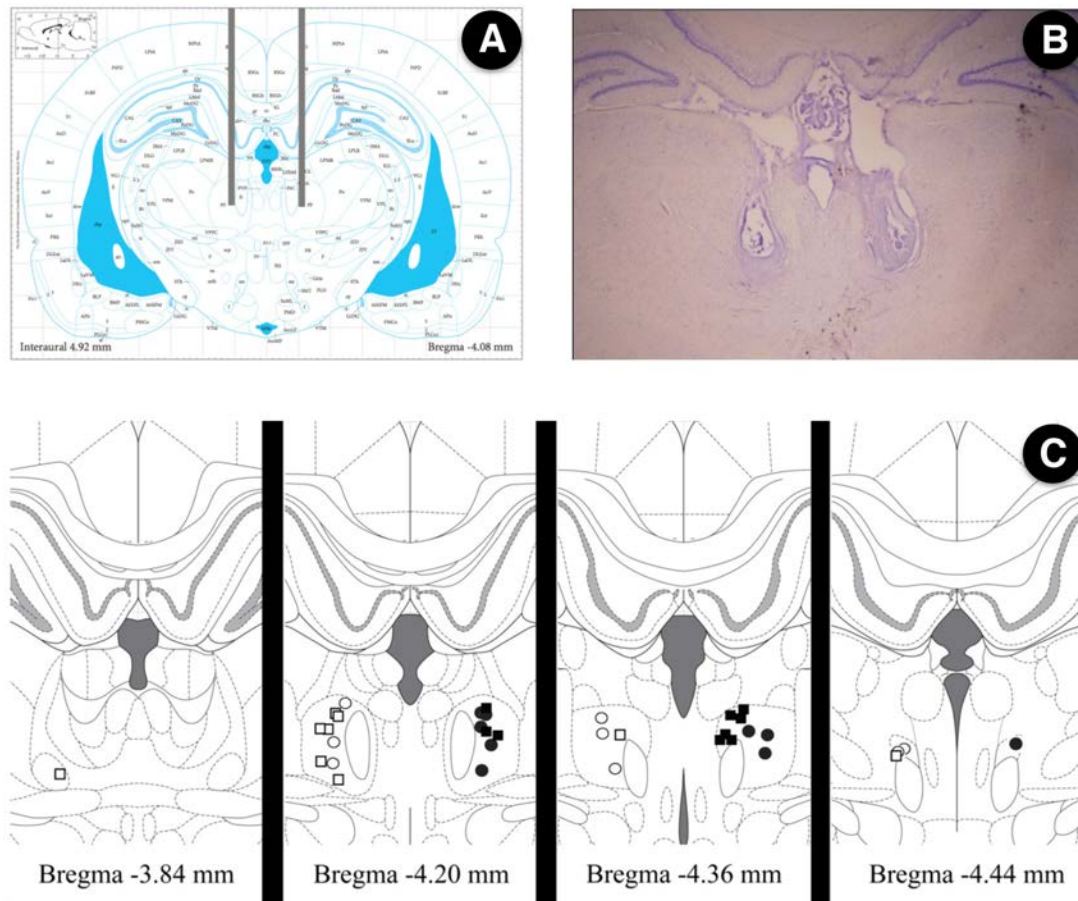
La mostra final, és a dir, el conjunt de subjectes vàlids per la recol·lecció de dades y el seu posterior anàlisis està format només pels animals que hagin superat els criteris histològics i conductuals; i no hagin sofert problemes en alguna de les etapes crítiques del experiment (cirurgia, privació calòrica, infusions prèvies a la tasca, etc).

Els subjectes que no superen la fase d'entrenament de la DVA, i per tant no s'incorporin a la fase d'Adquisició de la DVA, no formen part de la mostra final, de la mateixa manera que tampoc ho faran aquells subjectes que hagin patit algun tipus d'incident en la cirurgia o en el alguna de les altres etapes.

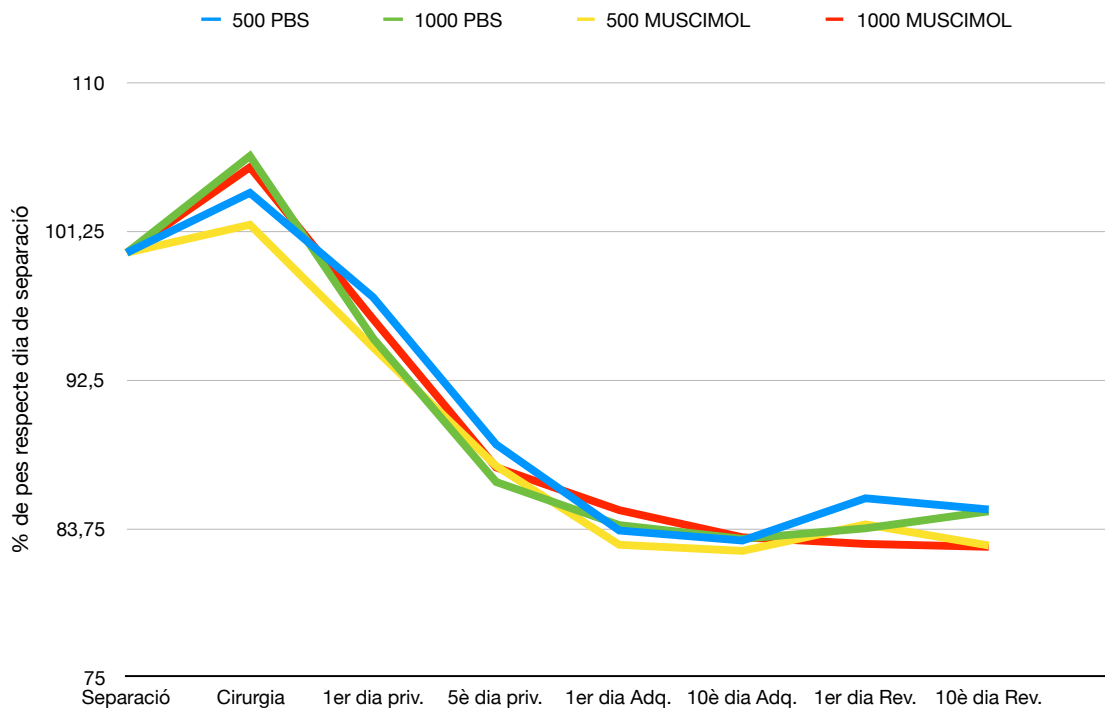
Al final del experiment i després de realitzar el procediment d'obtenció de mostres histològiques tots els subjectes varen ser sotmesos a la verificació histològica de la col·locació correcte de les cànules guia bilaterals mitjançant l'observació de les seccions coronals del cervell de les rates amb el microscopi. Les preparacions histològiques van ser analitzades i valorades per tres investigadors. Tots ells desconeixien el grup experimental al qual pertanyien els subjectes, així com també ignoraven el rendiment de cada subjecte en les tasques conductuals. Per tant, l'únic objectiu dels experimentadors en aquesta etapa fou detectar un senyal clar de la presència de la punta de la cànula guia i el microinjector en el nucli PF, dins l'àrea delimitada per el nucli comissural, el nucli talàmic paraventral, el nucli rostral intersticial, el nucli talàmic posterior i el fascicle retroflexus (Fig. 8). Per la mostra final només foren acceptats aquells animals llurs puntes de cànula es trobaven dins l'àrea del nucli PF bilateralment.

Llavors, d'una mostra inicial de vuitanta subjectes, només varen ser considerats vàlids trenta-cinc, distribuïts segons el seu grup experimental, basat en la durada de l'estímul lumínic i el tractament infós abans de la tasca conductual: 500 PBS (n=9), 500 MUSCIMOL (n=9), 1000 PBS (n=8) i 1000 MUSCIMOL (n=9).

Atenent a la naturalesa del protocol utilitzat durant l'experiment resulta important esmentar que els diferents grups experimentals no han mostrat diferències significatives de percentatge de pes respecte les mesures inicials del dia de separació, i per tant podem inferir que la restricció calòrica que motivava la seva cerca de pellets va ser equivalent entre els subjectes. En el Gràfic 1 observem un registre de les mitjanes de percentatge de pes en vuit punts destacables de l'experiment (separació, cirurgia, primer dia de privació alimentaria, cinquè dia de privació alimentaria, primer dia de la tasca d'adquisició de la DVA, desè dia de la tasca d'adquisició de la DVA, primer dia de la tasca de reversió de la DVA i desè dia de la tasca de reversió de la DVA) dividit per grups experimentals.



**FIGURA 8. (A)** Representació de les coordenades estereotàxiques del nucli PF on s'ha implantat la cànula bilateral (adaptat de Paxinos i Watson (1997)). **(B)** Microfotografia de secció coronal de teixit cerebral tenyit amb violeta de cresil d'un subjecte representatiu on s'observa la marca de la cànula guia bilateral i dels microinjectors al PF. **(C)** Representació esquemàtica de la localització de la punta de la cànula guia en el PF dels subjectes corresponents a la mostra final pels grups PBS-500 (quadrat blanc), MUSCIMOL-500 (quadrat negre), PBS-1000 (rodona blanca), MUSCIMOL-1000 (rodona negra). Adaptat de Paxinos i Watson (1997).



**GRÀFIC 1.** Recull de mitjanes dels percentatges de pes dels diferents grups experimentals en dies diferents, representatius de diferents fases de l'Experiment 1.

## Anàlisi de la tasca d'Adquisició de la DVA

### **Anàlisi de la Supervivència**

La corba de supervivència de Kaplan-Meier és una poderosa eina d'anàlisi estadístic que permet analitzar el comportament d'una mostra de la població donant testimoni dels subjectes que han experimentat un esdeveniment concret i en quin moment exacte s'ha donat el fenomen. Normalment aquest recurs s'ha emprat en estudis en els quals l'objectiu dels experimentadors era tractar d'esbrinar l'índex de mortalitat de varis grups, i així comparar l'efecte de variables independents com la inducció de malalties o l'administració de tractaments. No obstant, en el nostre treball l'anàlisi de la supervivència s'utilitza per conèixer la freqüència d'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca, així com la sessió en la que s'assoleix aquest criteri ( $\geq 80\%$  de respostes correctes en dues sessions consecutives). Els subjectes només disposaven de quinze sessions (una sessió al dia) per assolir el criteri d'aprenentatge marcat.

Els resultats obtinguts (Taula 6) mostren el nombre d'esdeveniments presentats en cada grup experimental, és a dir el nombre de rates que superen el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA dins dels quinze dies disponibles. Per altra banda també disposem de la sessió concreta en la que els subjectes que pertanyen a cada grup experimental assolien el criteri d'aprenentatge, així com els subjectes que es varen quedar "enrere" al no assolir el criteri, i no varen continuar en la darrera fase experimental (Reversió de la DVA)(Taula 7).

Grup exp.	N total	N d' esdeveniments	% d'assoliment
500 PBS	9	5	55,6%
1000 PBS	8	7	87,5%
500 MUSCIMOL	9	4	44,4%
1000 MUSCIMOL	9	6	66,7%
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>22</b>	<b>62,9%</b>

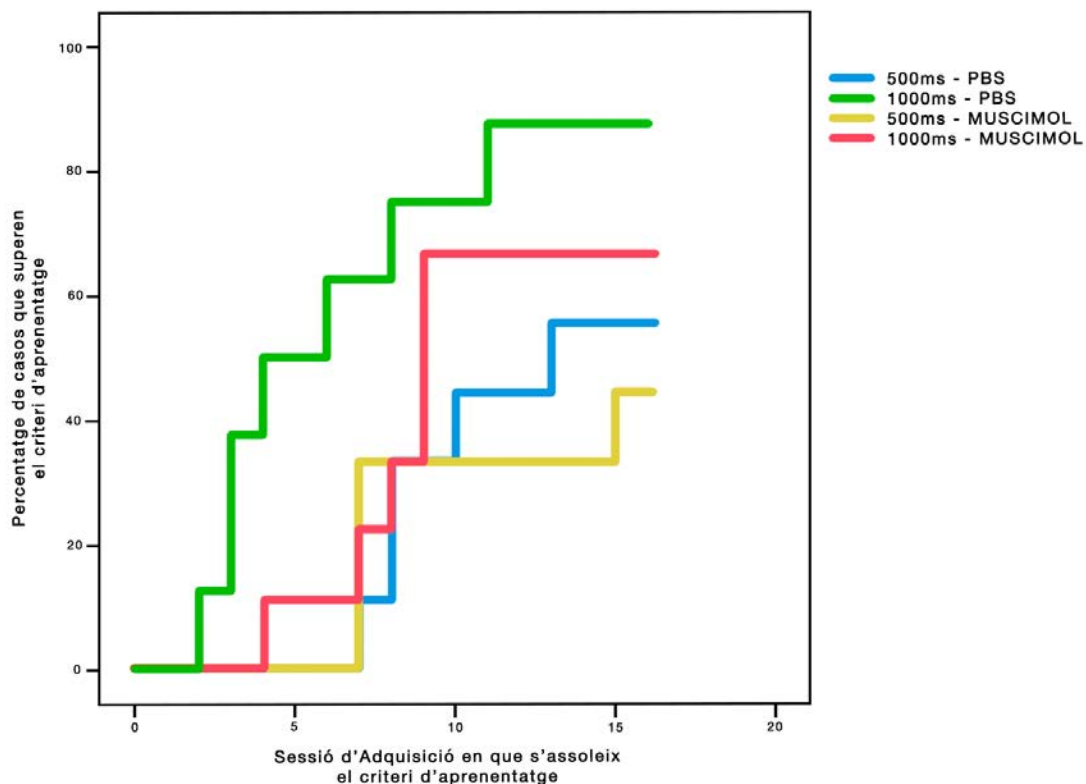
**TAULA 6.** Recull del nombre total de subjectes de cada grup experimental i el nombre i percentatge corresponent de subjectes de cada grup que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA.

Grup exp.		Temps	Estatus
500 PBS	1	7	Assolit
	2	8	Assolit
	3	8	Assolit
	4	10	Assolit
	5	13	Assolit
	6	--	No assolit
	7	--	No assolit
	8	--	No assolit
	9	--	No assolit
1000 PBS	1	2	Assolit
	2	3	Assolit
	3	3	Assolit
	4	4	Assolit
	5	6	Assolit
	6	8	Assolit
	7	11	Assolit
	8	--	No assolit
500 MUSCIMOL	1	4	Assolit
	2	7	Assolit
	3	7	Assolit
	4	15	Assolit
	5	--	No assolit
	6	--	No assolit
	7	--	No assolit
	8	--	No assolit
	9	--	No assolit
1000 MUSCIMOL	1	4	Assolit
	2	7	Assolit
	3	8	Assolit
	4	9	Assolit
	5	9	Assolit
	6	9	Assolit
	7	--	No assolit
	8	--	No assolit
	9	--	No assolit

**TAULA 7.** Recull dels subjectes de cada grup experimental que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA (caselles de color verd), així com la sessió experimental en la qual es va donar tal assoliment (columna Temps).

El anàlisi de la supervivència mostra diferències estadísticament significatives entre els grups experimentals (Breslow,  $X^2(3, N=35)=8,094$ ;  $p=0,044$ ). No obstant, una manera molt entenedora de visualitzar les dades és projectant una representació gràfica de l'anàlisi de la supervivència (Fig. 9). En el gràfic de l'anàlisi de la supervivència podem observar com a través de les sessions disponibles (eix d'abscisses) els subjectes dels diferents grups experimentals van assolint el criteri d'aprenentatge. Cada graó simbolitza cassos d'assoliment del criteri d'aprenentatge i al mateix temps l'extracció dels animals que han superat la tasca per introduir-los a la següent fase del experiment. Això implica una reducció de subjectes al llarg de les sessions de la fase d'adquisició de la DVA. En el eix d'ordenades s'especifica quin percentatge del grup experimental corresponent ha arribat a assolir el criteri d'aprenentatge establert. Per tant, un grup amb un fort rendiment en la tasca presentarà una corba de supervivència distribuïda per sobre de les altres (major percentatge de subjectes que han assolit la tasca) i situada a l'esquerra de l'àrea del gràfic (menys sessions requerides per assolir la tasca).

Mitjançant aquest anàlisi podem observar com el grup 1000 PBS mostra un millor rendiment en la tasca, mentre la resta de grups es troben més desfavorits per les seves condicions experimentals.



**FIGURA 9.** Gràfic d'anàlisi de la supervivència en l'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA de l'Experiment 1.

## Comparació de mitjanes

En els 40 minuts de durada de cada una de les sessions d'adquisició de la DVA el protocol informàtic que controla cada una de les *Skinner Box* també recull tots i cada un dels *inputs* que proporciona l'animal o l'absència d'aquests mitjançant els sensors presents dins la gàbia. D'aquesta manera s'ha pogut recollir el comportament rellevant de l'animal en cada sessió i contextualitzar aquestes respostes en cada un dels assajos compresos en les esmentades sessions.

Els sensors d'activació de les palanques retràctils recullen informació sobre el nombre de vegades i el moment exacte en el que l'animal prem cada una d'elles, i el sensor situat dins el receptacle on es dispensen els pellets proporciona informació sobre la presència del cap de l'animal dins d'aquesta cavitat. Per tant podem monitoritzar la conducta operant i la conducta d'ingesta; i probablement inferir d'aquestes dades el rendiment de l'animal i la motivació en la recerca de menjar.

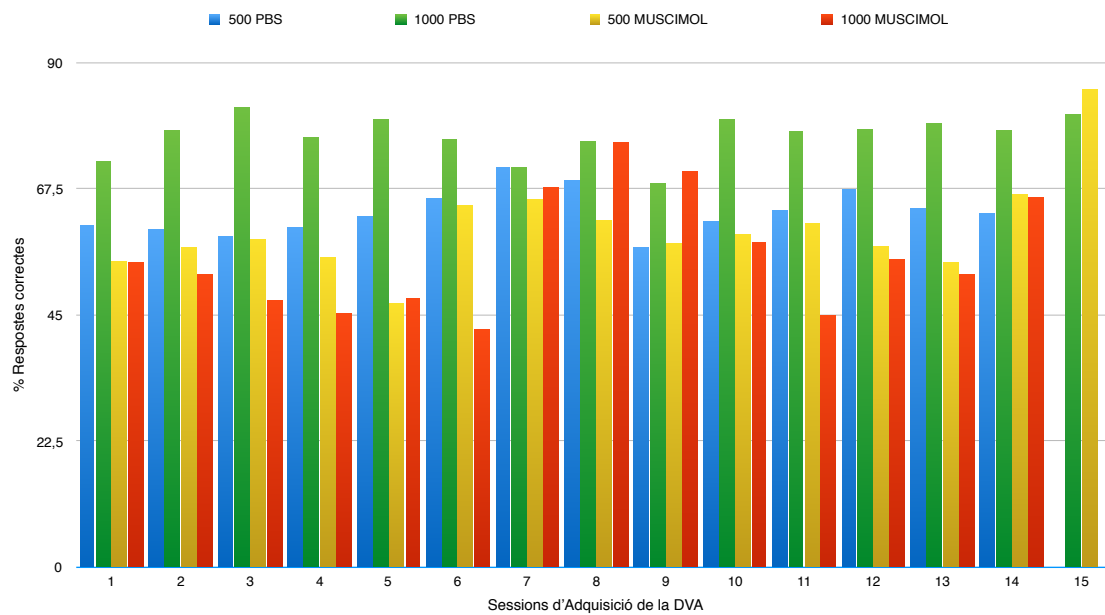
Un cop recollides les dades s'ha comparat entre elles les mitjanes que presenten cada un dels grups experimentals al llarg de les quinze sessions experimentals de la tasca d'adquisició. Les mitjanes comparades més rellevants corresponen a les següents variables de la DVA:

- **Percentatge de respostes correctes:** del nombre total d'assajos, es tracta del nombre d'assajos en els que el subjecte ha presentat una conducta operant adequada que en el protocol desemboca en l'administració de un pellet (Taula 10, Taula 11 i Gràfic 2).
- **Nombre d'omissions:** recompte del nombre d'errors que desemboquen a un estatus de *time out* dins les *Skinner Box* degut a la no resposta per part del animal durant 15 segons després de la presentació del estímul lumínic i les palanques retràctils (Taula 11).
- **Errors "de palanca":** recompte del nombre d'errors que desemboquen a un estatus de *time out* dins les *Skinner Box* degut a la resposta operant del subjecte dirigida a la palanca retràctil equivocada (Taula 11).
- **Latència en respostes correctes:** temps transcorregut entre la presentació del estímul lumínic i la resposta operant desembocant en l'administració d'un pellet (Taula 11).
- **Latència en respostes incorrectes:** temps transcorregut entre la presentació del estímul lumínic i la resposta operant desembocant a un estatus de *time out* (Taula 11).
- **Latència en conducta d'ingesta:** temps transcorregut entre la resposta operant correcta i la conducta d'introduir el cap en el receptacle on s'administra els pellets (Taula 11).
- **Preferència per una palanca:** diferència entre el nombre de vegades que s'escull la palanca 1 (dreta) respecte el nombre de vegades que s'escull la palanca 2 (esquerra) (Taula 11).

Sessió	Grup exp.	N	Mitjana	D.E.	Sig.
1	500 PBS	9	61,016	8,2434	0,003
	1000 PBS	8	72,430	11,2753	
	500 MUSCIMOL	9	54,639	5,1849	
	1000 MUSCIMOL	9	54,337	13,7417	
2	500 PBS	9	60,279	11,8167	0,000
	1000 PBS	8	77,968	7,3588	
	500 MUSCIMOL	9	57,131	7,1456	
	1000 MUSCIMOL	9	52,055	16,3083	
3	500 PBS	9	59,035	9,8870	0,003
	1000 PBS	7	81,983	7,6937	
	500 MUSCIMOL	9	58,490	14,1501	
	1000 MUSCIMOL	9	47,579	26,0466	
4	500 PBS	9	60,629	12,9077	0,016
	1000 PBS	5	76,729	4,6558	
	500 MUSCIMOL	9	55,437	11,6168	
	1000 MUSCIMOL	9	45,404	25,0986	
5	500 PBS	9	62,663	14,0210	0,036
	1000 PBS	4	79,814	3,2908	
	500 MUSCIMOL	8	47,022	21,0376	
	1000 MUSCIMOL	8	48,029	26,2732	
6	500 PBS	9	65,682	13,5384	0,016
	1000 PBS	4	76,333	8,5892	
	500 MUSCIMOL	8	64,571	13,0866	
	1000 MUSCIMOL	8	42,433	26,9540	
7	500 PBS	9	71,287	14,8232	0,867
	1000 PBS	3	71,314	13,1699	
	500 MUSCIMOL	8	65,606	14,5574	
	1000 MUSCIMOL	8	67,626	16,6661	
8	500 PBS	8	68,896	16,0109	0,435
	1000 PBS	3	75,913	5,7493	
	500 MUSCIMOL	6	61,988	16,9199	
	1000 MUSCIMOL	7	75,689	17,3062	
9	500 PBS	6	56,935	16,1678	0,458
	1000 PBS	2	68,335	11,3449	
	500 MUSCIMOL	6	57,653	14,8480	
	1000 MUSCIMOL	7	70,554	21,4219	
10	500 PBS	6	61,724	14,2014	0,292
	1000 PBS	2	79,924	7,2375	
	500 MUSCIMOL	6	59,483	13,9262	
	1000 MUSCIMOL	3	57,918	11,2054	
11	500 PBS	5	63,585	12,2951	0,201
	1000 PBS	2	77,764	10,3503	
	500 MUSCIMOL	6	61,503	19,4563	
	1000 MUSCIMOL	3	44,868	15,1923	
12	500 PBS	5	67,503	13,5560	0,421
	1000 PBS	1	78,222	--	
	500 MUSCIMOL	6	57,296	13,4565	
	1000 MUSCIMOL	3	54,719	21,0883	
13	500 PBS	5	64,035	15,2042	0,312
	1000 PBS	1	79,116	--	
	500 MUSCIMOL	6	54,433	6,9849	
	1000 MUSCIMOL	3	52,048	22,6772	
14	500 PBS	4	63,072	17,5903	0,843
	1000 PBS	1	78,017	--	
	500 MUSCIMOL	6	66,475	13,1066	
	1000 MUSCIMOL	3	66,080	14,1206	
15	500 PBS	0	--	--	--
	1000 PBS	1	80,738	--	
	500 MUSCIMOL	1	85,266	--	
	1000 MUSCIMOL	0	--	--	

**TAULA 10.** Comparació de mitjanes i desviació estàndard del nombre de respostes correctes al llarg de les quinze sessions de la tasca d'adquisició de la DVA per part dels diferents grups experimentals.

El percentatge de respostes correctes es pot interpretar com la mesura directa del rendiment de cada un dels subjectes en la DVA. Donat que el protocol experimental es va dissenyar per retirar els subjectes de la tasca un cop aquests superessin el criteri d'aprenentatge, al llarg de les sessions, la mostra original es redueix considerablement a mida que avança l'experiment. Aquest fenomen explica allò que podem observar en les taules 10 i 11 i en el gràfic 2. En la majoria d'àmbits conductuals analitzats mitjançant la comparació de mitjanes només trobem un fort i consistent patró de diferències significatives en les cinc o sis primeres sessions experimentals de la tasca d'adquisició de la DVA, que és quan es disposa d'una mostra més gran de subjectes per grup.



**GRÀFIC 2.** Mitjanes del percentatge de respostes correctes a llarg de les sessions de la tasca d'adquisició de la DVA del Experiment 1, dividit per grups.

Sessió	% resp. correctes	N. d'omissions	Error "de palanca"	L. resp. correctes	L. resp. incorrectes	L. conducta d'ingesta	Pref. per una palanca
1	0,003	0,020	0,003	0,000	0,001	0,000	0,005
2	0,000	0,017	0,000	0,002	0,002	0,001	0,962
3	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,969
4	0,016	0,000	0,000	0,005	0,000	0,009	0,359
5	0,036	0,033	0,014	0,031	0,004	0,041	0,654
6	0,016	0,011	0,055	0,100	0,073	0,001	0,985
7	0,867	0,391	0,927	0,080	0,045	0,189	0,452
8	0,435	0,318	0,118	0,264	0,019	0,024	0,799
9	0,458	0,915	0,292	0,695	0,164	0,287	0,522
10	0,292	0,590	0,511	0,193	0,311	0,252	0,939
11	0,201	0,289	0,464	0,006	0,091	0,002	0,488
12	0,421	0,326	0,644	0,024	0,006	0,308	0,455
13	0,312	0,419	0,563	0,041	0,023	0,173	0,781
14	0,843	0,925	0,673	0,086	0,003	0,317	0,979
15	--	--	--	--	--	--	--

**TAULA 11.** Índex de significació de les comparacions de mitjanes dels diferents àmbits conductuals de la tasca d'adquisició de la DVA. En verd es troben senyalitzades els índex estadísticament significatius.



De la mateixa manera que el grup 1000 MUSCIMOL presenta un rendiment menor en comparació a la resta de grups en la tasca d'adquisició de la DVA (percentatge de respostes correctes menor) podem veure com les variables que mostren el mateix grau de diferències en les mateixes sessions van en correspondència directa. Així doncs el nombre d'omissions, les latències en respostes correctes i incorrectes i les latències de conducta d'ingesta són més elevades en el grup 1000 MUSCIMOL respecte a la resta de grups, probablement afectant al rendiment final. No obstant, les diferències entre grups que es mostren en les sessions entre la 11 i la 14 van en direcció oposada, doncs les diferències individuals dels pocs subjectes restants del grup 1000 PBS marquen les diferències entre els grups. Per altra banda, la variable que recull el nombre d'errors comesos per prémer la palanca incorrecte mostra diferències principalment en funció del nivell de difultat de la tasca, essent els grups amb estímuls lluminosos de 500ms de durada els que mostren major nombre d'errors.

A primera vista, el darrer àmbit conductual analitzat, la preferència per una de les dues palanques, sembla no tenir valor descriptiu. No obstant aquestes dades requereixen un altre tipus d'anàlisi per revelar el seu potencial: la correlació de Pearson. Aquesta eina estadística pretén esbrinar el nivell de relació existent entre els valors que pren una variable dependent amb els valors d'una altra variable dependent. D'aquesta manera podem conèixer per exemple la correspondència entre els valors que pren el percentatge de respostes correctes i la preferència per una de les dues palanques, creuant les dades per cada una de les sessions. La correlació de Pearson pot prendre un valor comprès entre el 1 i el -1, en funció de si la correlació és positiva o negativa, respectivament, essent el valor 0 el testimoni d'absència de correlació. Els resultats es poden veure en la Taula 12.

Sessió	Correlació de Pearson	Significació
1	-0,034	0,847
2	0,034	0,848
3	-0,090	0,611
4	-0,014	0,940
5	0,132	0,490
6	0,086	0,658
7	0,224	0,251
8	0,290	0,169
9	-0,174	0,452
10	0,109	0,678
11	0,154	0,569
12	-0,056	0,843
13	-0,057	0,841
14	0,235	0,418
15	1	-----

**TAULA 12.** Correlació de Pearson i grau de significació entre les variables "percentatge de respostes correctes" i "preferència per una de les palanques" (dreta – esquerra).

Els resultats observats en la Taula 12, amb correlacions bidireccionals i sense cap significació al llarg de les sessions poden ser deguts a la naturalesa de la variable de preferència per una de les palanques, la qual és simplement la diferència entre el nombre de vegades que el subjecte prem la palanca dreta i el nombre de vegades que el subjecte prem la palanca esquerra. D'aquesta manera, apareixen valors positius (preferència per la palanca dreta) en contraposició a valors negatius (preferència per la palanca esquerra). Per tal de resoldre aquest contratemps es pot optar per convertir els valors de la variable a nombres absoluts (tots positius). Així s'obté una variable que representa la preferència dels animals per qualsevol de les palanques per sobre de la palanca oposada (sense distinció). Així doncs la correlació de Pearson descrita en la Taula 12 té la seva versió en termes absoluts en la Taula 13.

Sessió	Correlació de Pearson	Significació
1	-0,377	0,025
2	-0,290	0,092
3	-0,117	0,510
4	-0,067	0,715
5	-0,116	0,549
6	-0,171	0,376
7	-0,583	0,001
8	-0,239	0,261
9	-0,210	0,361
10	-0,414	0,098
11	-0,199	0,460
12	-0,678	0,005
13	-0,543	0,036
14	-0,557	0,039
15	1	-----

**TAULA 13.** Correlació de Pearson i grau de significació entre les variables “percentatge de respostes correctes” i “preferència per qualsevol de les palanques” (sense distinció), en la tasca d'adquisició de la DVA.

Per una banda, la comparació de mitjanes ens permet esbrinar si la pertinença a un dels quatre grups experimentals té efectes en el nivell de preferència per una palanca per sobre de l'altra, o el que es podria interpretar com una fixació per un comportament repetitiu, revelant una manca d'aprenentatge del condicionament operant, o un efecte del tractament. En canvi, la correlació de Pearson, especialment la versió amb valors absoluts ens descriu un fenomen altament previsible. Les correlacions negatives observades en la Taula 13 mostren que una preferència major per qualsevol de les palanques esdevé contraproductiu pel rendiment de l'animal, expressat en el percentatge de respostes correctes. La distribució de la palanca reforçada es presenta de manera aleatòria, per tant una conducta no repetitiva resulta més eficaç. En canvi, si l'animal no assimila el condicionament operant de manera clara, i opta per un comportament menys exigent en esforç físic i cognitiu (premer una sola palanca), tendirà a rebre només un nombre de pellets al voltant del 50% del total d'assajos. En les dades obtingudes veiem com els resultats de les darreres sessions reuneixen major significació. Això probablement sigui degut al reduït nombre de subjectes que es troben en aquestes sessions, els quals segurament

romanen en la fase d'adquisició durant més sessions i fins i tot no assoleixen el criteri d'aprenentatge, perquè no han superat la conducta de resposta repetitiva de prémer una de les dues palanques. De fet, el grau de significació de la correlació de Pearson entre la preferència per qualsevol de les palanques global de totes les sessions i una nova variable que indica la sessió en que l'animal assoleix el criteri d'aprenentatge és de  $p < 0,001$ .

### Anàlisi de la tasca de Reversió de la DVA

#### **Anàlisi de la Supervivència**

El mateix anàlisi estadístic descrit en l'apartat anterior s'ha realitzat per comparar el rendiment entre els grups experimentals també en la tasca de reversió de la DVA, la qual recordem que consisteix en un canvi de la contingència del condicionament instrumental adquirit en la tasca d'adquisició de la DVA. D'aquesta manera en la tasca de reversió de la DVA els subjectes han d'assolir el mateix criteri d'aprenentatge, però en aquesta ocasió per aconseguir el reforç positiu (pellets) han de dirigir la seva resposta conductual sobre la palanca no senyalitzada amb l'estímul lumínic. S'espera que d'aquesta manera es pugui avaluar la flexibilitat cognitiva del subjecte.

És evident que la tasca de reversió és més complexa d'assimilar per l'animal, especialment després de passar varies sessions en la tasca d'adquisició i assolir el criteri d'aprenentatge d'aquella etapa. Per aquest motiu, el nombre de sessions disponibles per assolir el criteri d'aprenentatge són vint-i-cinc sessions.

Grup exp.	N total	N d' esdeveniments	% d'assoliment
500 PBS	5	4	80,0%
1000 PBS	7	5	71,4%
500 MUSCIMOL	4	3	75,0%
1000 MUSCIMOL	6	1	16,7%
TOTAL	22	13	59,1%

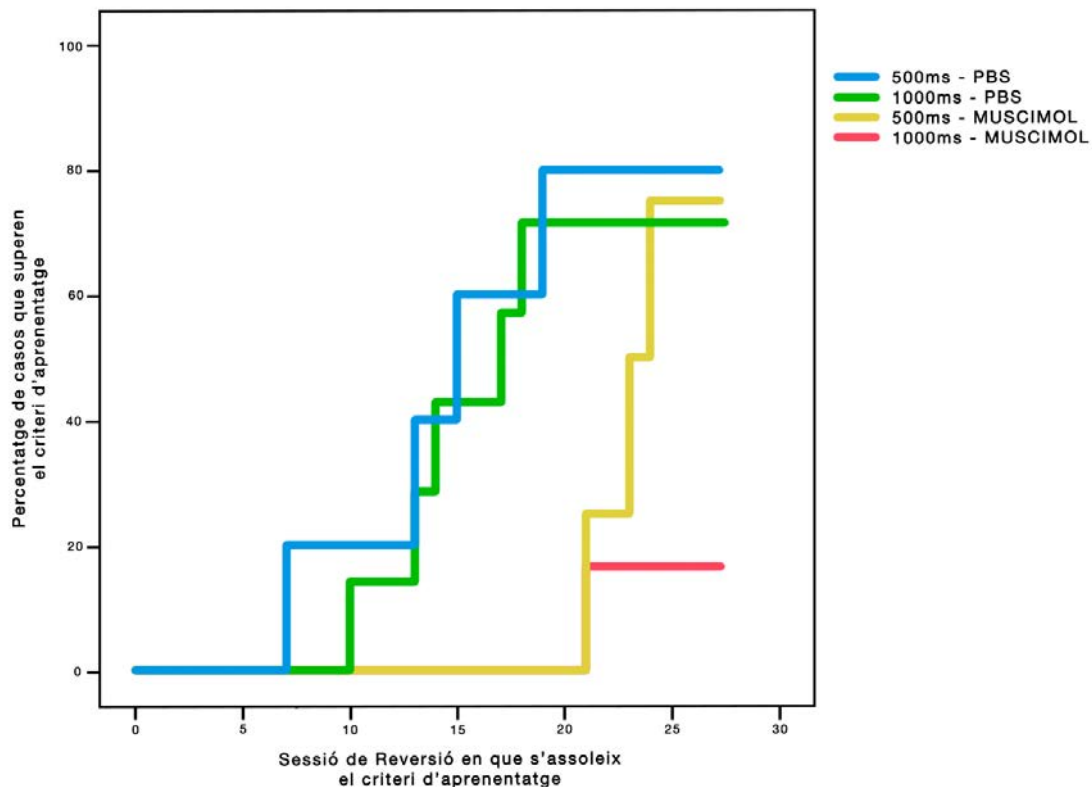
**TAULA 8.** Recull del nombre total de subjectes de cada grup experimental i el nombre i percentatge corresponent de subjectes de cada grup que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA.

Els resultats obtinguts (Taula 8) mostren el nombre d'esdeveniments presentats en cada grup experimental, és a dir el nombre de rates que superen el criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA dins dels vint-i-cinc dies disponibles. Per altra banda també disposem de la sessió concreta en la que els subjectes que pertanyen a cada grup experimental assolien el criteri d'aprenentatge, així com els subjectes que no varen assolir el criteri d'aprenentatge d'aquesta darrera fase del experiment (Taula 9).

Grup exp.		Temps	Estatut
500 PBS	1	7	Assolit
	2	13	Assolit
	3	15	Assolit
	4	19	Assolit
	5	--	No assolit
1000 PBS	1	10	Assolit
	2	13	Assolit
	3	14	Assolit
	4	17	Assolit
	5	18	Assolit
	6	--	No assolit
	7	--	No assolit
500 MUSCIMOL	1	21	Assolit
	2	23	Assolit
	3	24	Assolit
	4	--	No assolit
1000 MUSCIMOL	1	21	Assolit
	2	--	No assolit
	3	--	No assolit
	4	--	No assolit
	5	--	No assolit
	6	--	No assolit

**TAULA 9.** Recull dels subjectes de cada grup experimental que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA (caselles de color verd), així con la sessió experimental en la qual es va donar tal assoliment (columna Temps).

L'anàlisi estadístic de la supervivència indica que, malgrat observar-se un tendència, les diferències entre grups no són significatives (Breslow,  $X^2(3, N=22)=7,134$ ;  $p=0,068$ ). No obstant, es pot veure com el grups amb administració de muscimol triguen molt més a assolir l'aprenentatge.



**FIGURA 10.** Gràfic d'anàlisi de la supervivència en l'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA del Experiment 1.

## Comparació de mitjanes

Els mateixos anàlisis de comparació de mitjanes que s'han realitzat en la tasca d'adquisició de la DVA també s'han realitzat en la tasca de reversió de la DVA. Per tant també s'ha posat a prova el paper de la pertinença a un grup experimental en cada un dels àmbits conductuals monitoritzats mitjançant el protocol de les *Skinner Boxes*: percentatge de respostes correctes, nombre d'omissions, errors "de palanca", latència en respostes correctes, latència en respostes incorrectes, latència en conducta d'ingesta i preferència per una palanca. No obstant, cal tenir en compte que degut al establiment d'un criteri d'aprenentatge en la tasca d'adquisició de la DVA, així com un límit de sessions per assolir aquest criteri, es produeix una notable pèrdua de subjectes de la mostra vàlida. D'aquesta manera, en l'anàlisi estadístic de la tasca de reversió només es disposa de les dades de vint-i-dos subjectes, i aquesta reduïda mostra segueix minvant al llarg de les sessions de la tasca de reversió. També val a dir, que el nombre de subjectes que pertanyen a cada grup experimental és relativament desequilibrat si es compara amb la mostra que va iniciar la tasca d'adquisició de la DVA.

La taula 14 mostra el grau de significació de la comparació de mitjanes entre els grups experimentals en els àmbits conductuals estudiats en la tasca de reversió de la DVA.

Sessió	%resp. correctes	N. d'omissions	Error "de palanca"	L. resp. correctes	L. resp. incorrectes	L. conducta d'ingesta	Pref. Per una palanca
1	0,090	0,520	0,591	0,291	0,455	0,003	0,879
2	0,179	0,138	0,568	0,504	0,573	0,039	0,927
3	0,185	0,433	0,527	0,556	0,764	0,166	0,973
4	0,447	0,325	0,807	0,443	0,775	0,177	0,953
5	0,658	0,641	0,739	0,344	0,637	0,227	0,942
6	0,664	0,661	0,580	0,030	0,282	0,195	0,928
7	0,636	0,869	0,713	0,481	0,489	0,020	0,756
8	0,529	0,452	0,875	0,801	0,853	0,241	0,812
9	0,213	0,663	0,735	0,288	0,874	0,044	0,355
10	0,141	0,864	0,564	0,958	0,946	0,201	0,346
11	0,720	0,593	0,824	0,989	0,924	0,626	0,393
12	0,532	0,598	0,678	0,904	0,781	0,531	0,524
13	0,721	0,456	0,813	0,890	0,894	0,236	0,228
14	0,161	0,548	0,978	0,634	0,957	0,071	0,069
15	0,403	0,502	0,393	0,401	0,644	0,034	0,144
16	0,237	0,576	0,889	0,750	0,818	0,001	0,587
17	0,582	0,618	0,979	0,535	0,417	0,025	0,486
18	0,582	0,649	0,893	0,258	0,340	0,045	0,814
19	0,222	0,759	0,345	0,363	0,497	0,022	0,660
20	0,292	0,856	0,176	0,248	0,264	0,068	0,228
21	0,175	0,602	0,144	0,217	0,293	0,068	0,303
22	0,279	0,598	0,259	0,265	0,284	0,015	0,251
23	0,269	0,547	0,263	0,436	0,404	0,090	0,252
24	0,418	0,519	0,146	0,383	0,239	0,259	0,231
25	--	--	--	--	--	--	--

**TAULA 14.** Índex de significació de les comparacions de mitjanes dels diferents àmbits conductuals de la tasca de reversió de la DVA. En verd es troben senyalitzades els índex estadísticament significatius.

Sessió	Correlació de Pearson	Significació
1	0,498	0,018
2	0,563	0,006
3	0,527	0,012
4	0,089	0,695
5	-0,600	0,003
6	-0,341	0,120
7	-0,381	0,080
8	-0,546	0,011
9	-0,405	0,069
10	-0,400	0,073
11	-0,512	0,021
12	-0,412	0,071
13	-0,569	0,009
14	-0,351	0,153
15	-0,230	0,374
16	-0,652	0,006
17	-0,616	0,011
18	-0,644	0,010
19	-0,386	0,173
20	-0,553	0,050
21	-0,705	0,010
22	-0,724	0,018
23	-0,688	0,028
24	-0,773	0,015
25	----	----

**TAULA 15.** Correlació de Pearson i grau de significació entre les variables “percentatge de respostes correctes” i “preferència per qualsevol de les palanques” (sense distinció), en la tasca de reversió de la DVA.

Observant les dades obtingudes dels anàlisis de comparació de mitjanes (Taula 14) podem veure com l'efecte de la pèrdua de mostra en la tasca d'adquisició produeix una davallada en la sensibilitat de l'eina estadística i quasi no s'observen diferències significatives entre grups en els àmbits cognitius estudiats. Cal tenir en compte, que la majoria de subjectes amb un baix rendiment, que proporcionaven majors diferències entre grups han quedat descartats per participar en la tasca de reversió de la DVA, ja que primerament no han assolit el criteri d'aprenentatge en la tasca d'adquisició de la DVA. Només s'observen diferències significatives en algunes de les sessions en el àmbit de Latència de la conducta de ingesta; a priori, un paràmetre emprat en mesurar el nivell de motivació. Sembla ser que les rates que pertanyen al grup 1000 MUSCIMOL mostren un cert alentiment en el seu desplaçament previ al consum dels pellets en el receptacle on es dispensa el reforç positiu.

Per altra banda, la taula 15, de la mateixa manera que la taula 13, ens mostra un cop més, la relació inversament proporcional entre el grau de fixació de l'animal de prémer una sola palanca i el nivell de rendiment en la tasca. Així doncs, si un animal no assimila la nova contingència que marca la tasca de reversió de la DVA pot arribar a explorar i assimilar una estratègia basada en l'estalvi energètic. És adir, podríem parlar d'animals que lluny de descobrir el funcionament del protocol prefereixen gaudir del reforç aleatori amb un 50% d'encerts, i concentrar els seus esforços físics i cognitius en prémer només una palanca, en detriment d'una conducta més activa que els podria proporcionar un major nombre de pellets per la seva ingesta.

### Tasca de camp obert

Amb la intenció de descartar un possible efecte del tractament de muscimol sobre la conducta motora dels subjectes, una mostra de 14 subjectes vàlids distribuïts en funció del fàrmac administrat al nucli PF varen ser seleccionats per sotmetre's a un test en un laberint de camp obert durant 10 minuts, tal i com es descriu al l'apartat Materials i mètodes d'aquest treball. Els animals estudiats no varen presentar diferències significatives en funció del grup experimental al que pertanyien en els paràmetres recollits: distància recorreguda ( $F(1,14)=0,208$ ;  $p=N.S$ ), velocitat ( $F(1,14)=0,208$ ;  $p=N.S$ ) i nombre de transicions entre àrees ( $F(1,14)=0,218$ ;  $p=N.S$ ).

- (c) Experiment 2: Efectes de la infusió intracerebral de DCS al CPL sobre la reversió del dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal del nucli PF del tàlem, en rates.

### 1. Objectiu experimental

Un cop realitzat l'experiment 1 podem partir d'un model animal de dèficit cognitiu basat en la inactivació temporal del PF mitjançant l'administració de muscimol (agonista GABAa) en el mateix nucli via transcraneal. L'experiment 2, en canvi, aborda de manera completa la hipòtesis plantejada al inici d'aquest apartat i permet donar resposta al plantejament general del present treball de recerca. Per tant en l'experiment 2 es posa a prova l'efecte terapèutic de l'administració intracerebral de DCS en subjectes llur capacitats cognitives foren minvades artificialment. S'espera que la pèrdua de influència glutamatèrgica del nucli PF sobre el CPL pugui ser revertida per la modulació dels receptors NMDA del CPL induïda per l'administració de la DCS.

Les proves emprades seran les mateixes que les utilitzades en l'Experiment 1, les tasques d'adquisició i reversió de la DVA. Així doncs el disseny experimental consistirà en reproduir el procés de l'experiment 1, però establint quatre grups experimentals diferents basats en la combinació farmacològica administrada en el nucli PF (PBS o Muscimol) i en el nucli CPL (PBS o DCS). En l'Experiment 2 s'ha escollit un sol nivell de dificultat en funció de la durada del estímul lluminós (1000ms), per evitar que una dificultat superior contaminin les possibles diferències entre els grups experimentals. Per tant els grups experimentals són: PBS - PBS, PBS - MUSCIMOL, DCS - PBS i DCS - MUSCIMOL.

### 2. Materials i mètodes

#### i. Subjectes

Setanta-dues rates mascle adultes del tipus Wistar procedents del estabulari del nostre laboratori (mitjana d'edat=93,46 dies, DS=3,52; pes mitjà=357,55g, DS=26,53, al començament del experiment) foren individualitzades en gàbies de plàstic transparents (50 x 22 x 14cm), a una temperatura (20-23°C) i una humitat (40-70%) ambientals controlades. Les gàbies es situaven en un cicle de dotze hores de llum y unes altres dotze hores de foscor (s'encenien els llums a les 08:00 a.m.). Les rates gaudien d'accés il·limitat de menjar (Scientific Animal Food & Engineering, Augy, France) i aigua durant els quatre dies d'habitució al contacte amb els experimentadors previ a la cirurgia. Tots els procediments es varen dur a terme complint amb les directrius del consell de la Comunitat Europea per la cura i ús d'animals de laboratori (86/609/ECC) i emparats sota l'autorització de la Generalitat de Catalunya (DOGC 2450 7/8/1997, DARP numero de protocol 3046).



## ii. Disseny experimental

L'organització del experiment es pot entendre de manera resumida i esquemàtica (Fig. 5) a través d'un resum de les etapes per les quals passa cada un dels subjectes experimentals i els períodes de temps estipulats per a cada una d'aquestes etapes. En essència es tracta d'un estricte calendari on queden recollides les fases del experiment i el temps màxim del qual disposa l'animal per assolir les tasques abans de ser considerat apte per la següent fase o descartat.

Per ordre, i a grans trets, les etapes a les quals es sotmeten els animals són les següents: separació més *handling*, operació més postoperatori, privació (restricció alimentària) més habituació a pellets apetitius, fases 1 i 2 de entrenament, adquisició de la tasca de discriminació visual atencional (DVA), i DVA revertida (tres nivells de dificultat). A través d'aquestes etapes un animal pot estar en fase experimental entre quatre i 12,4 setmanes (les setmanes són considerades de cinc dies, entre dilluns i divendres).

## iii. Separació, *handling* i restricció alimentària

Passats aproximadament tres mesos des del naixement dels subjectes, cada dimarts s'individualitzaven quatre rates sota les condicions exposades en l'apartat "Subjectes". La separació setmanal de quatre rates correspon a la restricció creada pels recursos del laboratori, doncs només es disposava de quatre gàbies experimentals o cambres operants (*Skinner Boxes*) per fer els experiments.

Els tres dies posteriors a la separació els animals van ser manipulats pels investigadors sota la tècnica anomenada *handling*. Aquest procediment consisteix en recollir manualment els animals, treure'ls de les seves gàbies d'individualització y tocar el seu cos (sempre equipats amb guants i bata de laboratori) amb cura i progressiva intensitat per tal que l'animal desenvolupi confiança amb els experimentadors i s'habitui al contacte humà.

A la setmana següent es procedeix a realitzar les cirurgies de implantació de cànules per tal de realitzar les futures microinfusions intracraneals, i també es du a terme un seguiment post-operatori dels animals.

Un cop superada la setmana d'operació i post-operatori, i a fi d'incrementar la motivació dels animals a la ingesta de pellets administrats com a reforç a la *Skinner Box* del experiment, els subjectes varen ser sotmesos a una restricció de menjar. L'objectiu era aconseguir en el lapse de cinc dies que els animals adoptessin una massa corporal entre el 80% i el 85% respecte al seu pes inicial (sota cap restricció). Els dos últims dies d'aquesta setmana (dijous i divendres) els animals passaven per dues fases d'habitució. En la primera (dijous) es col·locava una placa de Petri dins cada una de les gàbies

amb deu unitats de les boletes de menjar apetitiu que després seran administrats com a reforç positiu dins les *Skinner Boxes*, d'ara endavant anomenats pellets (45mg; BioServ, Frenchtown, NJ). Es considerava que aquesta habituació havia finalitzat un cop l'animal havia consumit tots els pellets. Si l'animal no consumia els pellets en un lapse de temps de deu minuts es deixava la placa de Petri amb els pellets restants dins la gàbia fins l'endemà. Per altra banda, en la segona habituació (divendres), la placa de Petri, contenint deu pellets era dipositada davant del dispensador de menjar de les *Skinner Boxes*. L'animal era introduït dins la *Skinner Box* adjudicada i s'activava el protocol informàtic d'habitució, el qual consisteix en la simple inactivitat de la *Skinner Box* i el funcionament del llum i soroll ambientals que es mantindrà al llarg de les fases experimentals. El protocol finalitzava després d'una hora i l'animal era retirat per tornar a les seves gàbies d'individualització sota la restricció alimentària esmentada.

#### iv. Cirurgia esterotàxica

Els animals foren anestesiats mitjançant una barreja de ketamina (Ketolar, 90mg/Kg) i xilacina (Rompun, 8mg(kg)) i posteriorment sotmesos a una intervenció quirúrgica amb aparell esterotàxic (Stoeling, ST51904 Digital Manipulators Arm, Illinois, USA) per implantar de manera crònica una cànula guia al nucli PF, i una altra al CPL. Les coordenades esterotàxiques de implantació al nucli PF varen ser AP, -4,1mm des de bregma; ML, +/-1,0mm des de la línia mitja; i DV, -6,5mm des de la superfície del crani; i les del CPL foren AP, +3,5mm des de bregma; ML, +/-0,6mm des de la línia mitja; i DV, -2,9mm des de la superfície del crani (Paxinos & Watson; 1997). Cada cànula guia bilateral estava composta per dos tubs metàl·lics de 26-gauge que es projectaven 7mm des del pedestal en el cas de les cànules dirigides al nucli PF i 3mm des del pedestal en el cas de les cànules dirigides al CPL (PlasticOne<sup>®</sup>, Bilaney Consultants GMBH, Germany). Dins els tubs de la cànula guia es va situar *dummy stylets* estèrils (PlasticOne<sup>®</sup>) per evitar l'oclusió dels tubs, i sobre el pedestal de rosca un tap de plàstic per evitar la pèrdua dels *dummy stylets*. Després de la cirurgia, les rates es varen tornar a les seves gàbies d'individualització durant set dies, en els que la rata fou manipulada i pesada diàriament. També cada dia les cànules guia, els *dummy stylets* i els taps varen ser comprovats. Si l'animal no mostrava cap tipus de complicació en aquesta setmana de post-operatori seguidament es sotmetia a la setmana de privació alimentària descrita anteriorment.

#### v. Microinfusió

Les rates d'aquest experiment van rebre les administracions intracerebrals de DCS o PBS en el CPL, vint minuts abans de les sessions experimentals, i muscimol o PBS en el nucli PF, cinc minuts abans de les sessions experimentals, atenent al moment del pic de màxim efecte esperat que s'espera en cada fàrmac. Amb aquest propòsit els subjectes van ser

curosament immobilitzats durant el procediment. Primerament se'ls hi retirava els *dummy stylets* i al seu lloc s'introduïa un doble microinjector d'acer inoxidable de 33-gauge (PlasticOne<sup>®</sup>) que es projecten 1mm fora de la cànula guia. Els microinjectors estaven seguits de dos tubs de polietilè (PlasticOne<sup>®</sup>) connectats a dues xeringues de 10µl (SGE Analytical Science, Cromlab S.L. Barcelona, Spain), les quals estaven muntades a una bomba d'infusió (11 Plus Syringe Pump, Harvard Apparatus Inc., USA). El muscimol (Sigma-Aldrich, Madrid, Spain) es va dissoldre en PBS (Phosphate-bufferet saline, tampó fosfat salí, 0,1M, pH 7,4) per obtenir una dosi de 0,6µg/µl. La solució es va infundir bilateralment al PF (simultàniament als dos hemisfèris) amb un volum de 0,15µl/hemisfèri durant 90 segons (0,10µl/hemisfèri per minut). Els microinjectors es varen deixar col·locats durant un minut més després de la infusió per permetre la bona difusió de la solució i evitar un possible reflux en la extracció dels microinjectors. La dosi, volum, moment i durada de la infusió es basen en estudis prèvis (Brown et.al, 2010). La DCS (Sigma-Aldrich, Madrid, Spain) es va dissoldre en PBS (Phosphate-bufferet saline, tampó fosfat salí, 0,1M, pH 7,4) per obtenir una dosi de 10µg/µl. La solució es va infundir bilateralment al CPL (simultàniament als dos hemisfèris) amb un volum de 0,5µl/hemisfèri durant 120 segons (0,25µl/hemisfèri per minut). Les rates que varen rebre infusions de PBS ho varen fer sota les mateixes condicions de volum i velocitat esmentades, en funció de la regió diana (PF o CPL).

#### vi. Tasca de discriminació visual atencional (DVA)

La hipòtesis d'aquest treball i els objectius que se'n deriven es posen a prova mitjançant una tasca associativa de tipus operant. Una sort d'aprenentatge pel qual l'animal adquireix el comportament de prémer una palanca, a escollir entre dues, per tal d'obtenir reforç de tipus apetitiu. Per escollir correctament la palanca reforçada caldrà que l'animal atengui a les pistes visuals de tipus lumínic que indiquen la palanca reforçada, sota la dificultat de que aquest estímul visual és de molt curta durada. Abans d'arribar a la fase d'adquisició de la DVA, és a dir, la fase pròpiament experimental, així com les últimes sessions de DVA revertida, l'animal haurà de superar les fases d'entrenament progressiu prèvies a la DVA, amb la intenció que l'animal parteixi d'un nivell mínim de comprensió de la tasca i per poder confiar en que treballem amb subjectes presumiblement sota les mateixes condicions cognitives.

La tasca DVA (entrenament, adquisició i reversió) es du a terme dins i mitjançant les cambres operants de tipus *Skinner Box* (25 x 25 x 25 cm; LE 1005CP, PanLab S.L.U.) situades dins cubicles atenuants del soroll exterior (65 x 55 x 50 cm) equipats amb un llum ambiental centrat a l'aresta superior del fons contrari a la porta del cubicle, i un petit ventilador que proporcionava moviment de l'aire i soroll blanc (Fig. 6). Cada cambra disposava de dues palanques retràctils, localitzades a cada costat del receptacle de menjar central on s'ofereix els pellets de reforç, els quals eren

alliberats per un dispensador de pellets situat a l'exterior de la cambra. El esmentat receptacle pels pellets disposa d'una foto-cèl·lula electrònica a mode de detector de presència del cap de la rata en el moment d'ingesta del pellet del receptacle. Un díode emissor de llum (circular) es troba centrat sobre cada una de les palanques i serveix com a estímul, senyal discriminable en l'aprenentatge. Cada cambra estava il·luminada per un únic llum (igual que els díodes anteriors) centrat a la part superior de la paret contrària al receptacle i les palanques. Aquest tercer llum proporciona informació a l'animal sobre l'estat d'activitat de la cambra (*House light*). Tot aquest equipament d'eines d'investigació conductual que componen les *Skinner Boxes* i la recopilació de dades que proporcionen van ser controlats mitjançant el software Packwin (PanLab S.L.U.).

## vii. Entrenament

La fase d'entrenament de la DVA té dos objectius molt clars: permetre als subjectes iniciar la fase de DVA entenent el funcionament bàsic de les *Skinner Box* havent assimilat l'associació de les conductes de prémer la palanca correcte amb la disposició de reforç.

La fase d'entrenament consta de dues etapes que es realitzen a llarg de la nit (des de les 19:00 fins les 10:00 del dia següent). En la primera, la rata inicia la tasca rebent 15 pellets de manera gratuïta (un cada 5 segons). D'aquesta manera indiquem on l'animal trobarà el menjar dispensat (en el receptacle). A continuació, només una palanca es fa operativa (sur de la paret de la *Skinner Box*), la dreta o l'esquerra de manera aleatòria, i aquesta està il·luminada per l'estímul visual que es troba sobre la palanca activa. La palanca i el llum es troben actius de manera indefinida fins que es dona la resposta de l'animal (prémer la palanca). Després de cada una de les respostes del subjecte la palanca s'endinsa (deixa de ser disponible) i s'administra un pellet. Cada un dels assajos s'inicia 5 segons després de l'administració del pellet reforç. Un cop l'animal ha acumulat un total de 25 respostes, les dues palanques retràctils apareixen al mateix temps, però només una d'elles està associada a una senyal lumínica i per tant associada a un reforç. Una resposta correcte activarà l'administració d'un pellet, com anteriorment; però una resposta incorrecte (prémer la palanca no il·luminada) comportarà 5 segons de *time out*, en els que tots i cada un dels llums de la *Skinner Box* (els de sobre les palanques i el *House light*) s'apagarán, i només quedarà activa la llum ambiental de la cambra d'insonorització i el ventilador. L'objectiu del subjecte és arribar a realitzar 260 respostes correctes. Si ho aconsegueix haurà superat la primera fase del entrenament, i la pròxima nit podrà iniciar la segona fase.

En la segona fase d'entrenament es repeteix l'última etapa de la primera fase. L'animal es troba de nou davant la presentació de dues palanques, i una d'elles senyalitzada amb un estímul visual fins que l'animal respon. La resposta correcte i reforçada és prémer la palanca senyalitzada amb el llum.

Aquests assajos es repeteixen fins que l'animal aconsegueix 300 respostes correctes (300 pellets). No obstant, interpretem que s'ha assolit l'aprenentatge només si l'animal proporciona un percentatge de respostes correctes igual o superior al 80% en dues nits consecutives. Aquestes dues fases d'entrenament nocturnes no poden excedir les cinc sessions (una per nit), i en elles els animals no reben cap tipus de tractament.

#### viii. Adquisició

La setmana següent al entrenament s'inicia l'adquisició de la tasca per aquells animals que hagin superat el criteri de d'aprenentatge de l'entrenament. El període d'adquisició té una durada màxima de quinze dies distribuïts en tres setmanes: cinc sessions per setmana, una sessió de 40 minuts diària.

Al llarg de les sessions diàries de 40 minuts els animals repeten assajos que s'iniciaven amb la presentació de les dues palanques experimentals acompanyades d'un estímul visual de tipus lumínic situat sobre la palanca reforçada, la dreta o l'esquerra aleatòriament (Fig. 7A). Els animals sotmesos a aquesta tasca han de prémer la palanca senyalada amb l'estímul visual per tal d'obtenir el reforç (pellet). L'activitat lumínica de l'estímul visual té una durada de 1000ms; i els grups experimentals queden formats a partir de la combinació de tractaments farmacològics administrats: PBS-PBS, PBS-MUSCIMOL, DCS-PBS, DCS-MUSCIMOL. Després d'una resposta correcta les dues palanques es retrauen i el dispensador de menjar posa un pellet en el receptacle d'ingesta. Cinc segons després s'inicia un nou assaig. En canvi, després d'una resposta incorrecte les palanques es retrauen, no s'administra pellet i la *House light* s'apaga durant cinc segons (període de *time out*). Sempre s'inicia un nou assaig després d'una resposta correcta o incorrecte, fins acabar el temps de la sessió (40 minuts). En aquesta tasca també es considera un nou tipus d'error: els errors d'omissió, els quals s'enregistren quan l'animal no respon durant 15 segons després de la presentació de les palanques. Els errors d'omissió també comporten un període *time out*.

Un cop més, el criteri d'assoliment de la tasca és aconseguir un percentatge de respostes correctes igual o superior al 80% en dues sessions consecutives.

## ix. Reversió

Només les rates que hagin assolit el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició són sotmeses a la tasca de reversió la qual té un màxim de vint-i-cinc sessions sota la mateixa distribució que la tasca d'adquisició. El criteri d'assoliment és el mateix ( $\geq 80\%$  de respostes correctes) i els grups experimentals no canvien, rebent el mateix tractament crònic i mantenint la durada de l'estímul visual. L'única diferència respecte a la tasca d'adquisició és que l'animal ha de prémer la palanca no senyalitzada amb l'estímul visual per tal d'obtenir el reforç (reversió o *reversa*)(Fig. 7B). Aquesta diferència, després d'assolir l'adquisició representa un repte per als animals en el que es posa a prova la seva flexibilitat cognitiva, per aquest motiu la durada màxima de la tasca de reversió és major. També amb la intenció de facilitar que els animals entenguin el nou procediment els sotmetem a dues sessions obligatòries prèvies a la reversió esmentada. Aquestes dues sessions són més fàcils. En la primera sessió pre-reversió, la rata no entra en el període de *time out* després d'una resposta incorrecte, i a mode de pista, la llum del estímul es torna a encendre repetidament després de cada resposta incorrecte senyalant la palanca que no ha de prémer l'animal. La insistència de l'animal i la manca d'administració del reforç en les respostes incorrectes suposen un procés d'extinció del aprenentatge previ i conviden a la rata a provar l'altre palanca, obtenint llavors el reforç. En la segona sessió pre-reversió l'animal no entra en període *time out* després d'una resposta incorrecte, però el llum senyalitzador de la palanca incorrecte no es torna encendre si l'animal torna a prémer la palanca incorrecte; llavors només disposa d'un estímul lluminós amb la durada marcada pel protocol (1000ms). Després d'aquestes dues sessions especials, en la següent sessió s'inicia la tasca de reversió esmentada anteriorment.

## x. Tasca de camp obert

Per provar els efectes del muscimol sobre l'activitat locomotora dels subjectes s'ha utilitzat una tasca de camp obert. L'aparell emprat va ser una superfície circular envoltada d'una paret al llarg del perímetre de la circumferència (50x50x35cm). El terra i la paret de l'aparell eren blancs i il·luminats amb un llum de 300 lx. Després de la infusió combinada de fàrmacs en funció del grup experimental al qual pertanyen els subjectes es va avaluar la seva activitat motora horitzontal mitja durant 10 minuts mitjançant un sistema de monitorització (SMART, LEtica, Barcelona, Spain). Es va registrar l'activitat motora en la superfície total i diferenciant les zones interna i externa del camp obert: distància, velocitat, nombre d'entrades a les zones i percentatge de temps transcorregut en aquestes.

## xi. Histologia

Un cop superada l'avaluació conductual, les rates foren profundament anestesiades amb una sobredosis de pentobarbital sòdic (Dolethal, Vetoquinol SA, Madrid, Espanya; 200mg/kg i.p.) i varen ser perfusionades transcardíacament amb una solució salina del 0,9% seguida de formalina al 10%. Les cànules guia foren extretes amb cura i el cervells es van postfixar amb la formalina 10% almenys 24 hores. Posteriorment es varen submergir els cervells en una solució de sucrosa al 30%. Un cop els cervells varen absorbir la sucrosa es va seccionar cada un d'ells en talls coronals de 40µm de gruix mitjançant un aparell criòstat (Shandon Cryotome FSE, Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA). Les seccions es van muntar i tenyir amb violeta de cresil, es varen examinar sota un microscopi òptic (Olympus BX41; Olympus Optical CO, LTD, Tokyo, Japó) i finalment es va microfotografiar (Olympus DP70) les seccions on s'aprecia el lloc on es trobava situada la cànula guia.

## xii. Estadística

Després de completar l'experiment i descartar tots els animals no vàlids (no superen l'entrenament en DVA o l'anàlisi histològic no confirma la correcta col·locació de la cànula guia) ens disposem a realitzar un anàlisi estadístic de les tasques d'Adquisició de la DVA, Reversió de la DVA i camp obert.

En el cas de l'anàlisi estadístic de la prova de camp obert es realitzaran comparacions de mitjanes de les dades enregistrades. No obstant, en l'anàlisi de les dades extretes de les tasques d'Adquisició i de Reversió de la DVA es durà a terme una sèrie de proves estadístiques: anàlisi de la supervivència; comparació de mitjanes (One Way ANOVA) per el percentatge de respostes correctes, el nombre de omissions, els errors de palanca, la latència de resposta correcta, la latència de resposta incorrecta, la latència de conducta d'ingesta i la preferència per les palanques; i correlacions de Pearson entre la preferència per prémer una palanca i el rendiment en la tasca (percentatge de respostes correctes).

Cal esmentar que degut a la naturalesa d'aquest experiment, l'anàlisi més rellevant i representatiu de l'efecte del factor del grup experimental és l'anàlisi de la supervivència, que en aquest cas s'utilitza per registrar l'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició i de reversió, així com el moment en el que es dona. Cada cop que un animal supera la prova és traslladat a la següent etapa i deixa de registrar dades amb la resta de subjectes. Així doncs la mostra de subjectes es va reduint al llarg de la prova, per tant la resta d'anàlisis estadístics perden força a mida que es succeeixen les sessions experimentals.

### 3. Resultats

La mostra final, és a dir, el conjunt de subjectes vàlids per la recol·lecció de dades y el seu posterior anàlisi està format només pels animals que hagin superat els criteris histològics i conductuals; i no hagin sofert problemes en alguna de les etapes crítiques del experiment (cirurgia, privació calòrica, infusions prèvies a la tasca, etc).

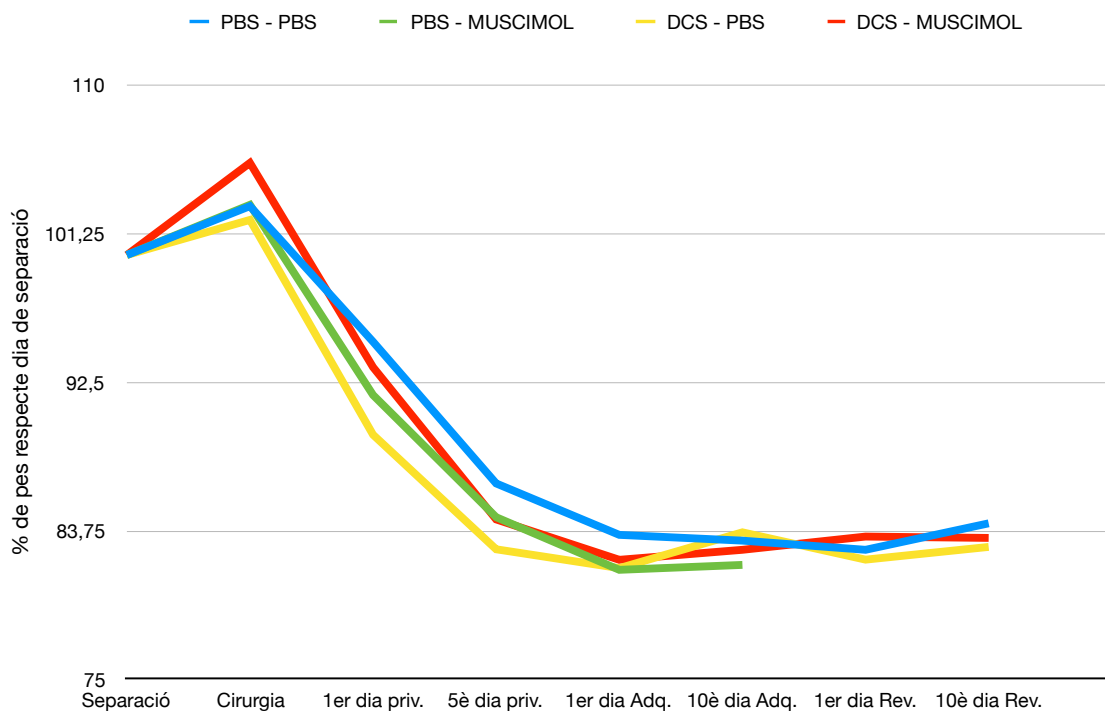
Els subjectes que no superen la fase d'entrenament de la DVA, i per tant no s'incorporin a la fase d'Adquisició de la DVA, no formen part de la mostra final, de la mateixa manera que tampoc ho faran aquells subjectes que hagin patit algun tipus d'incident en la cirurgia o en alguna de les altres etapes.

Al final del experiment i després de realitzar el procediment d'obtenció de mostres histològiques tots els subjectes varen ser sotmesos a la verificació histològica de la col·locació correcte de les cànules guia bilaterals mitjançant l'observació de les seccions coronals del cervell de les rates amb el microscopi. Les preparacions histològiques van ser analitzades i valorades per tres investigadors. Tots ells desconeixien el grup experimental al qual pertanyien els subjectes, així com també ignoraven el rendiment de cada subjecte en les tasques conductuals. Per tant, l'únic objectiu dels experimentadors en aquesta etapa fou detectar un senyal clar de la presència de la punta de la cànula guia i el microinjector en el nucli PF, dins l'àrea delimitada per el nucli comissural, el nucli talàmic paraventral, el nucli rostral intersticial, el nucli talàmic posterior i el fascicle retroflexus; i en el CPL, dins l'àrea delimitada per el còrtex cingulat, la línia mitja interhemisfèrica, i depenent del nivell rostro-caudal, el còrtex infralímbic, el còrtex orbital medial, el fòrceps menor del cos callós i el còrtex orbital ventral (Fig. 11). Per la mostra final només foren acceptats aquells animals llurs puntes de cànula es trobaven dins l'àrea del nucli PF bilateralment i dins l'àrea del CPL bilateralment.

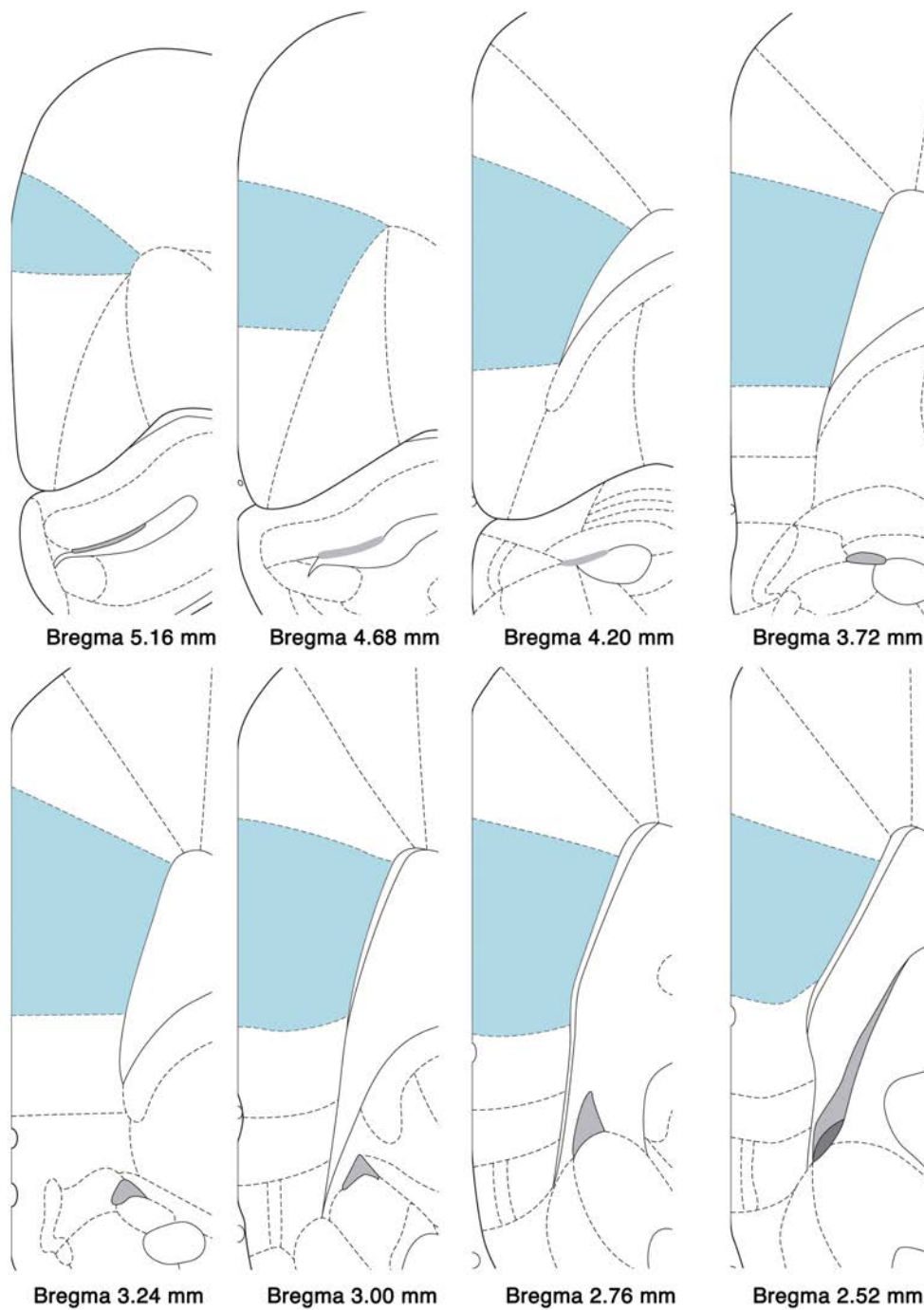
Llavors, d'una mostra inicial de setanta-dos subjectes, només varen ser considerats vàlids trenta-nou, distribuïts segons el seu grup experimental, basat en la combinació de tractament farmacològic administrat de manera crònica abans de cada sessió de les tasques de DVA: PBS-PBS (n=7), PBS-MUSCIMOL (n=7), DCS-PBS(n=14) i DCS-MUSCIMOL (n=11).



Atenent a la naturalesa del protocol utilitzat durant l'experiment resulta important esmentar que els diferents grups experimentals no han mostrat diferències significatives de percentatge de pes respecte les mesures inicials del dia de separació, i per tant podem inferir que la restricció calòrica que motivava la seva cerca de pellets va ser equivalent entre els subjectes. En el Gràfic 3 observem un registre de les mitjanes de percentatge de pes en vuit punts destacables de l'experiment (separació, cirurgia, primer dia de privació alimentaria, cinquè dia de privació alimentaria, primer dia de la tasca d'adquisició de la DVA, desè dia de la tasca d'adquisició de la DVA, primer dia de la tasca de reversió de la DVA i desè dia de la tasca de reversió de la DVA) dividit per grups experimentals.



**GRÀFIC 3.** Recull de mitjanes dels percentatges de pes dels diferents grups experimentals en dies diferents, de diferents fases representatives de l'Experiment 2.



**FIGURA 11.** Representació esquemàtica de l'àrea del CPL (en blau) en les diferents seccions coronals on es fa visible el seu considerable volum. Els subjectes vàlids del Experiment 2 tenien localitzades les puntes de cànules bilaterals en aquesta regió, deixant marques clares en les mostres histològiques. Adaptat de Paxinos i Watson (1997).

## Anàlisi de la tasca d'Adquisició de la DVA

### **Anàlisi de la Supervivència**

La corba de supervivència de Kaplan-Meier és una poderosa eina d'anàlisi estadístic que permet analitzar el comportament d'una mostra de la població donant testimoni dels subjectes que han experimentat un esdeveniment concret i en quin moment exacte s'ha donat el fenomen. Normalment aquest recurs s'ha emprat en estudis en els quals l'objectiu dels experimentadors era tractar d'esbrinar l'índex de mortalitat de varis grups, i així comparar l'efecte de variables independents com la inducció de malalties o l'administració de tractaments. No obstant, en el nostre treball l'anàlisi de la supervivència s'utilitza per conèixer la freqüència d'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca, així com la sessió en la que s'assoleix aquest criteri ( $\geq 80\%$  de respostes correctes en dues sessions consecutives). Els subjectes només disposaven de quinze sessions (una sessió al dia) per assolir el criteri d'aprenentatge marcat.

Els resultats obtinguts (Taula 16) mostren el nombre d'esdeveniments presentats en cada grup experimental, és a dir el nombre de rates que superen el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA dins dels quinze dies disponibles. Per altra banda també disposem de la sessió concreta en la que els subjectes que pertanyen a cada grup experimental assolien el criteri d'aprenentatge, així com els subjectes que es varen quedar "enrere" al no assolir el criteri, i no varen continuar en la darrera fase experimental (Reversió de la DVA)(Taula 17).

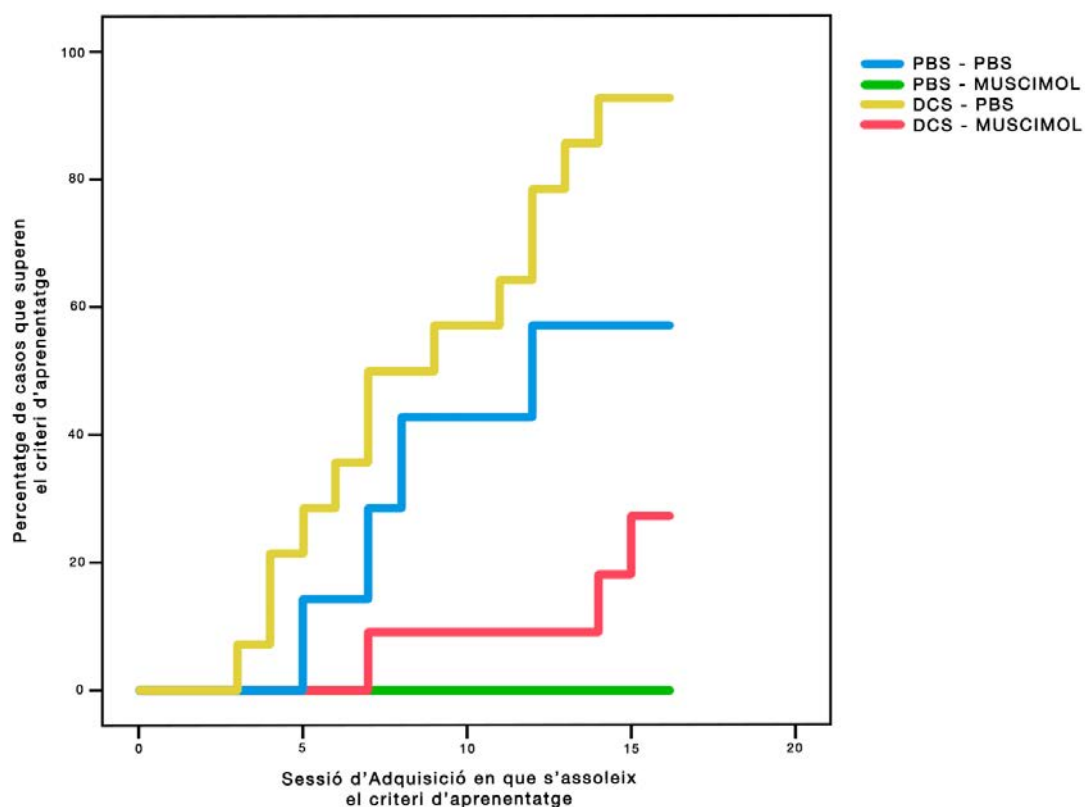
Grup exp.	N total	N d' esdeveniments	% d'assoliment
PBS-PBS	7	4	57,1%
PBS-MUSCIMOL	7	0	00,0%
DCS-PBS	14	13	92,9%
DCS-MUSCIMOL	11	3	27,3%
<b>TOTAL</b>	<b>39</b>	<b>20</b>	<b>51,3%</b>

**TAULA 16.** Recull del nombre total de subjectes de cada grup experimental i el nombre i percentatge corresponent de subjectes de cada grup que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA.

Grup exp.		Temps	Estatus
PBS-PBS	1	5	Assolit
	2	7	Assolit
	3	8	Assolit
	4	12	Assolit
	5	--	No assolit
	6	--	No assolit
	7	--	No assolit
PBS-MUSCIMOL	1	--	No assolit
	2	--	No assolit
	3	--	No assolit
	4	--	No assolit
	5	--	No assolit
	6	--	No assolit
	7	--	No assolit
DCS-PBS	1	3	Assolit
	2	4	Assolit
	3	4	Assolit
	4	5	Assolit
	5	6	Assolit
	6	7	Assolit
	7	7	Assolit
	8	9	Assolit
	9	11	Assolit
	10	12	Assolit
	11	12	Assolit
	12	13	Assolit
	13	14	Assolit
	14	--	No assolit
DCS-MUSCIMOL	1	7	Assolit
	2	14	Assolit
	3	15	Assolit
	4	--	No assolit
	5	--	No assolit
	6	--	No assolit
	7	--	No assolit
	8	--	No assolit
	9	--	No assolit
	10	--	No assolit
	11	--	No assolit

**TAULA 17.** Recull dels subjectes de cada grup experimental que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA (caselles de color verd), així com la sessió experimental en la qual es va donar tal assoliment (columna Temps).

L'anàlisi de la supervivència mostra diferències estadísticament significatives entre els grups experimentals (Breslow,  $X^2(3, N=39)=24,30$ ;  $p<0,001$ ). No obstant, una manera molt entenedora de visualitzar les dades és projectant una representació gràfica de l'anàlisi de la supervivència (Fig. 12). En el gràfic de l'anàlisi de la supervivència podem observar com a través de les sessions disponibles (eix d'abscisses) els subjectes dels diferents grups experimentals van assolint el criteri d'aprenentatge. Cada graó simbolitza casos d'assoliment del criteri d'aprenentatge i al mateix temps l'extracció dels animals que han superat la tasca per introduir-los a la següent fase del experiment. Això implica una reducció de subjectes al llarg de les sessions de la fase d'adquisició de la DVA. En el eix d'ordenades s'especifica quin percentatge del grup experimental corresponent ha arribat a assolir el criteri d'aprenentatge establert. Per tant, un grup amb un fort rendiment en la tasca presentarà una corba de supervivència distribuïda per sobre de les altres (major percentatge de subjectes que han assolit la tasca) i situada a l'esquerra de l'àrea del gràfic (menys sessions requerides per assolir la tasca).



**FIGURA 12.** Gràfic d'anàlisi de la supervivència en l'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA en l'Experiment 2.

Tal i com s'observa en les taules 16 i 17, i en la figura 12, cap dels animals que pertanyien al grup experimental PBS-MUSCIMOL van assolir el criteri d'aprenentatge de la DVA en el període de la tasca d'Adquisició. Per aquest motiu en els anàlisis de la tasca de reversió de la DVA només es consideren tres grups experimentals, doncs no hi havia subjectes observables del grup esmentat en la etapa final del experiment.

## Comparació de mitjanes

En els 40 minuts de durada de cada una de les sessions d'adquisició de la DVA el protocol informàtic que controla cada una de les *Skinner Box* també recull tots i cada un dels *inputs* que proporciona l'animal o l'absència d'aquests mitjançant els sensors presents dins la gàbia. D'aquesta manera s'ha pogut recollir el comportament rellevant de l'animal en cada sessió i contextualitzar aquestes respostes en cada un dels assajos compresos en les esmentades sessions.

Els sensors d'activació de les palanques retràctils recullen informació sobre el nombre de vegades i el moment exacte en el que l'animal prem cada una d'elles, i el sensor situat dins el receptacle on es dispensen els pellets proporciona informació sobre la presència del cap de l'animal dins d'aquesta cavitat. Per tant podem monitoritzar la conducta operant i la conducta d'ingesta; i probablement inferir d'aquestes dades el rendiment de l'animal i la motivació en la recerca de menjar.

Un cop recollides les dades s'ha comparat entre elles les mitjanes que presenten cada un dels grups experimentals al llarg de les quinze sessions experimentals de la tasca d'adquisició. Les mitjanes comparades més rellevants corresponen als següents àmbits conductuals de la DVA:

- **Percentatge de respostes correctes:** del nombre total d'assajos, es tracta del nombre d'assajos en els que el subjecte ha presentat una conducta operant adequada que en el protocol desemboca en l'administració de un pellet (Taula 20).
- **Nombre d'omissions:** recompte del nombre d'errors que desemboquen a un estatus de *time out* dins les *Skinner Box* degut a la no resposta per part del animal durant 15 segons després de la presentació del estímul lumínic i les palanques retràctils (Taula 22).
- **Errors "de palanca":** recompte del nombre d'errors que desemboquen a un estatus de *time out* dins les *Skinner Box* degut a la resposta operant del subjecte dirigida a la palanca retràctil equivocada (Taula 22).
- **Latència en respostes correctes:** temps transcorregut entre la presentació del estímul lumínic i la resposta operant desembocant en l'administració d'un pellet (Taula 22).
- **Latència en respostes incorrectes:** temps transcorregut entre la presentació del estímul lumínic i la resposta operant desembocant a un estatus de *time out* (Taula 22).
- **Latència en conducta d'ingesta:** temps transcorregut entre la resposta operant correcte i la conducta d'introduir el cap en el receptacle on s'administra els pellets (Taula 22).
- **Preferència per una palanca:** diferència entre el nombre de vegades que s'escull la palanca 1 (dreta) respecte el nombre de vegades que s'escull la palanca 2 (esquerra) (Taula 22).

Sessió	Grup exp.	N	Mitjana	D.E.	Sig.
1	PBS-PBS	7	63,582	7,2734	0,001
	PBS-MUSCIMOL	7	47,222	16,8661	
	DCS-PBS	14	66,322	7,9270	
	DCS-MUSCIMOL	11	47,108	17,4752	
2	PBS-PBS	7	62,179	10,3209	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	26,454	26,0066	
	DCS-PBS	14	65,883	10,8644	
	DCS-MUSCIMOL	11	46,825	8,9511	
3	PBS-PBS	7	65,451	10,9437	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	32,867	20,9890	
	DCS-PBS	14	69,828	10,3049	
	DCS-MUSCIMOL	11	42,793	9,0369	
4	PBS-PBS	7	66,630	13,6474	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	26,969	18,1599	
	DCS-PBS	13	71,512	12,8905	
	DCS-MUSCIMOL	11	46,556	19,6465	
5	PBS-PBS	7	69,905	5,2777	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	25,865	4,2824	
	DCS-PBS	11	72,227	3,0961	
	DCS-MUSCIMOL	11	46,000	5,7198	
6	PBS-PBS	6	69,295	6,0206	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	31,786	8,4185	
	DCS-PBS	10	74,769	2,9448	
	DCS-MUSCIMOL	11	46,841	4,8550	
7	PBS-PBS	6	71,858	6,0281	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	31,820	7,0194	
	DCS-PBS	9	75,562	2,9532	
	DCS-MUSCIMOL	11	47,393	6,2872	
8	PBS-PBS	5	68,399	5,7607	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	29,734	8,4747	
	DCS-PBS	7	77,660	4,5545	
	DCS-MUSCIMOL	10	46,960	4,9897	
9	PBS-PBS	4	57,951	9,4978	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	25,666	6,0102	
	DCS-PBS	7	72,271	4,1295	
	DCS-MUSCIMOL	10	42,934	4,2412	
10	PBS-PBS	4	56,229	7,0770	0,004
	PBS-MUSCIMOL	7	37,079	9,4052	
	DCS-PBS	6	74,088	4,5369	
	DCS-MUSCIMOL	10	54,337	3,2216	
11	PBS-PBS	4	65,395	6,9846	0,002
	PBS-MUSCIMOL	7	34,749	8,1462	
	DCS-PBS	6	72,851	5,8994	
	DCS-MUSCIMOL	10	49,182	4,1408	
12	PBS-PBS	4	66,093	7,2589	0,000
	PBS-MUSCIMOL	7	39,634	6,0054	
	DCS-PBS	5	78,301	4,1239	
	DCS-MUSCIMOL	10	58,147	3,1524	
13	PBS-PBS	3	63,417	7,9317	0,047
	PBS-MUSCIMOL	7	42,340	9,7921	
	DCS-PBS	3	78,478	4,4088	
	DCS-MUSCIMOL	10	57,411	3,9775	
14	PBS-PBS	3	60,232	7,0169	0,143
	PBS-MUSCIMOL	7	39,252	9,4756	
	DCS-PBS	2	79,270	4,2702	
	DCS-MUSCIMOL	10	53,141	6,8398	
15	PBS-PBS		--	--	--
	PBS-MUSCIMOL		--	--	
	DCS-PBS		--	--	
	DCS-MUSCIMOL		--	--	

**TAULA 20.** Comparació de mitjanes del nombre de respostes correctes al llarg de les quinze sessions de la tasca d'adquisició de la DVA per part dels diferents grups experimentals.

El percentatge de respostes correctes es pot interpretar com la mesura directa del rendiment de cada un dels subjectes en la DVA. No obstant, en el moment de comparar el rendiment dels diferents grups experimentals, l'anàlisi de la supervivència segueix essent la millor eina. La comparació de mitjanes presenta un greu problema en aquesta classe d'investigació, doncs el protocol està dissenyat per retirar els subjectes de la tasca un cop aquests superen el criteri d'aprenentatge. Per aquest motiu, la mostra original es redueix considerablement a mida que avança l'experiment, i això suposa una disminució de la potència estadística. És a dir, a mida que la mostra dels diferents grups experimentals disminueix la sensibilitat de l'anàlisi estadístic també ho fa. Aquest fenomen explica allò que podem observar en les taules 20 i 22. En la majoria d'àmbits conductuals analitzats mitjançant la comparació de mitjanes el grau de significació no és del tot estable, doncs si analitzem el grau de diferència que hi ha entre dos grups concrets en dues sessions experimentals separades, podem observar que en un cas el nivell de diferència és estadísticament significatiu, i en l'altre cas no. Això es degut a que el nombre de subjectes que componen els dos grup comparats varien d'una sessió experimental a una altra, no només el seu rendiment en la tasca.

Observant la taula 20, i analitzant les dades que mostra, podem afirmar que hi ha una gran diferència entre els grups experimentals i que aquesta queda reflectida en les diferències estadísticament significatives en quasi totes les sessions d'adquisició de la tasca. No obstant, si centrem la nostra atenció en la comparació de les mitjanes de dos dels grups del experiment veurem que el grau de significació no és molt alt, i que en bastants casos és nul. La taula 21(A) mostra el grau de diferència de les mitjanes del percentatge de respostes correctes dels animals que pertanyen als grups PBS-MUSCIMOL i DCS-MUSCIMOL, al llarg de les quinze sessions de la tasca d'adquisició de la DVA. En canvi, els graus de significació mostrats en el mateix àmbit conductual les diferències entre els grups DCS-PBS i DCS-MUSCIMOL són més clares i estables (Taula 21, B).

**(A)**

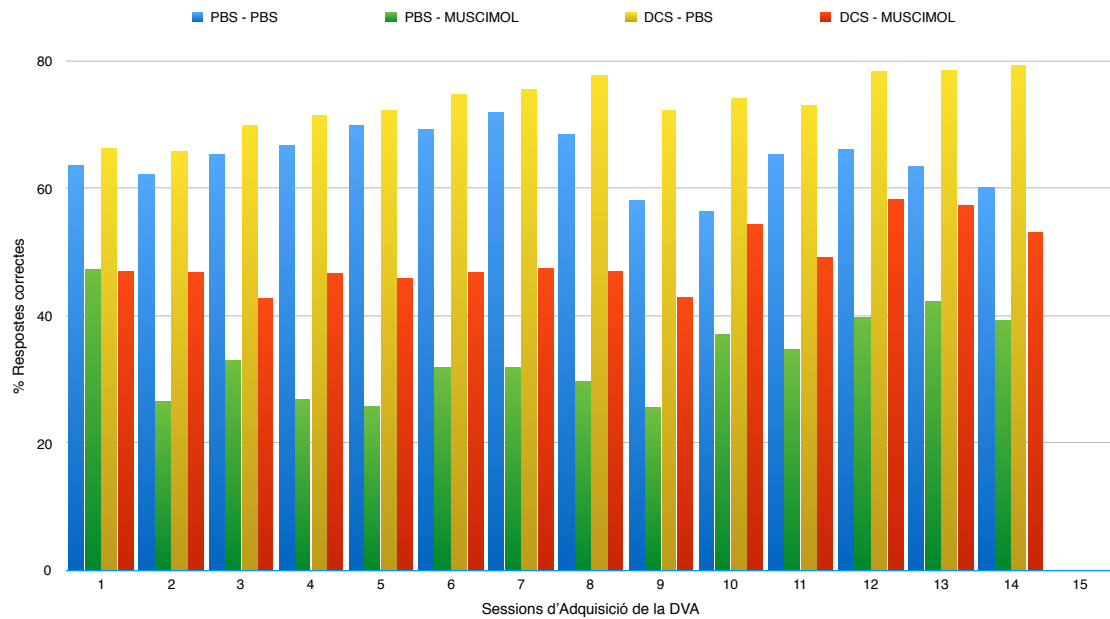
S.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Sig.	1	,032	,674	,105	,040	,343	,386	,264	,134	,232	,491	,037	,600	1	--

**(B)**

S.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Sig.	,005	,012	,000	,004	,001	,002	,005	,005	,002	,151	,055	,043	,518	,803	--

**TAULA 21.** Anàlisi de Bonferroni posterior a la comparació de mitjanes. **(A)** Comparació específica de les mitjanes dels grups PBS-MUSCIMOL i DCS-MUSCIMOL en percentatge de respostes correctes en la tasca d'adquisició de la DVA. **(B)** Comparació específica de les mitjanes dels grups DCS-PBS i DCS-MUSCIMOL en percentatge de respostes correctes en la tasca d'adquisició de la DVA. En verd les diferències estadísticament significatives.





**GRÀFIC 4.** Mitjanes del percentatge de respostes correctes a llarg de les sessions de la tasca d'adquisició de la DVA del Experiment 2, dividit per grups.

Observant les dades recollides en les taules 20 i 22 i el gràfic 4 podem apreciar com les diferències més intenses es donen entre els subjectes que formen part dels grups PBS-MUSCIMOL i DCS-PBS, essent el primer el més desfavorit en el rendiment en la tasca d'adquisició de la DVA. A més el grup DCS-PBS mostra un rendiment superior a la resta de grups, en part pel major nombre de subjectes de la mostra que pertanyen a aquest grup i proporcionen millors puntuacions al llarg de les sessions, sense quedar-se sense subjectes dins del grup abans de la finalització de la tasca. També, es pot interpretar aquestes dades com un efecte sostre. La DCS administrada sobre el CPL en subjectes sense dèficit cognitiu podria provocar un molt bon rendiment en la tasca però bloquejaria un rendiment superior dels subjectes, no permeten l'assoliment total del criteri d'aprenentatge per retirar els subjectes de la tasca. Per altra banda cal destacar que en el grup PBS-MUSCIMOL sembla ser que mostra una gran diferència en el nombre d'omissions respecte a la resta de grups, el que podria ser la causa del seu mal rendiment en la tasca, però en canvi, en aquesta variable el grup DCS-PBS no és el més afavorit, doncs és el grup PBS-PBS el que mostra un menor nombre d'omissions al llarg de les sessions de la tasca d'adquisició de la DVA, justament al contrari del que succeeix en el nombre d'errors comesos per prémer la palanca equivocada. Els subjectes PBS-MUSCIMOL del total de *time-outs* que provoquen en el protocol quasi tots són deguts a l'omissió de resposta, mentre el grup PBS-PBS es el grup amb menor nombre de *time-outs* procedents per una manca de resposta. El grup PBS-MUSCIMOL, sense dubte el grup amb pitjor rendiment, també és el que mostra les latències de resposta y conducta d'ingesta més altes en comparació a la resta de grups. En canvi el grup PBS-PBS és el que mostra latències de resposta més baixa, però no en la variable de latència de la

conducta d'ingesta, en la que el grup més ràpid és el DCS-PBS. Aquestes dades podrien indicar que la DCS administrada en subjectes sense dèficit cognitiu pot accelerar alguns tipus de comportament, però no tots, i així no podríem parlar de que escullin una resposta més ràpid que les rates PBS-PBS, un comportament que podria ser contraproductiu. Per altra banda el grup DCS-MUSCIMOL presenta rendiments intermitjos en la tasca d'adquisició de la DVA mostrant diferències en la resta de grups menys severes i més inestables en el temps. En el cas de la comparació amb el grup PBS-MUSCIMOL les diferències són les més baixes i inestables (Taula 21 A) suggerint que el dèficit cognitiu que produeix el muscimol en el PF és massa intens per a ser revertit per la DCS en el CPL, i/o que l'efecte de la DCS és massa discret per acabar provocant un autèntica i indiscutible reversió del dèficit induït.

Sessió	% resp. correctes	N. d'omissions	Errors "de palanca"	L. resp. correctes	L. resp. incorrectes	L. conducta d'ingesta	Pref. per una palanca
1	0,001	0,021	0,169	0,123	0,066	0,221	0,540
2	0,000	0,000	0,000	0,005	0,002	0,001	0,004
3	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,000	0,029
4	0,000	0,000	0,004	0,005	0,081	0,041	0,088
5	0,000	0,000	0,004	0,000	0,002	0,001	0,123
6	0,000	0,000	0,042	0,000	0,003	0,008	0,080
7	0,000	0,000	0,096	0,002	0,058	0,012	0,001
8	0,000	0,008	0,360	0,143	0,163	0,105	0,073
9	0,000	0,001	0,128	0,261	0,649	0,104	0,219
10	0,004	0,039	0,164	0,623	0,248	0,198	0,446
11	0,002	0,013	0,183	0,219	0,290	0,121	0,039
12	0,000	0,000	0,019	0,004	0,069	0,007	0,605
13	0,047	0,159	0,150	0,044	0,037	0,233	0,383
14	0,143	0,92	0,106	0,410	0,255	0,503	0,560
15	--	--	--	--	--	--	--

**TAULA 22.** Índex de significació de les comparacions de mitjanes dels diferents àmbits conductuals de la tasca d'adquisició de la DVA. En verd es troben senyalitzades els índex estadísticament significatius.

Finalment, el darrer àmbit conductual analitzat, la preferència per una de les dues palanques, sembla no tenir valor descriptiu. No obstant aquestes dades requereixen un altre tipus d'anàlisi per revelar el seu potencial: la correlació de Pearson. Aquesta eina estadística pretén esbrinar el nivell de relació existent entre els valors que pren una variable dependent amb els valors d'una altra variable dependent. D'aquesta manera podem conèixer per exemple la correspondència entre els valors que pren el percentatge de respostes correctes i la preferència per una de les dues palanques, creuant les dades per cada una de les sessions. La correlació de Pearson pot prendre un valor comprès entre el 1 i el -1, en funció de si la correlació és positiva o negativa, respectivament, essent el valor 0 el testimoni d'absència de correlació. Els resultats es poden veure en la Taula 23.

Sessió	Correlació de Pearson	Significació
1	0,054	0,743
2	0,061	0,711
3	0,157	0,340
4	0,085	0,610
5	0,261	0,124
6	0,177	0,316
7	0,125	0,488
8	0,135	0,486
9	0,166	0,399
10	0,045	0,824
11	0,149	0,457
12	0,153	0,456
13	0,119	0,589
14	0,155	0,492
15	-----	-----

**TAULA 23.** Correlació de Pearson i grau de significació entre les variables “percentatge de respostes correctes” i “preferència per una de les palanques” (dreta – esquerra).

Els resultats observats en la Taula 23, amb correlacions positives baixes i sense cap significació al llarg de les sessions poden ser deguts al rendiment mostrat al llarg de les sessions i al origen que explica aquest rendiment. Mentre en l'Experiment 1 els subjectes amb pitjor rendiment (menys percentatge de respostes correctes) podia explicar-se per la conducta repetitiva de prémer només una de les palanques (preferència per una de les palanques); en el cas de la tasca d'Adquisició de l'Experiment 2 sembla ser que l'origen d'un baix rendiment ve donat per un gran nombre d'omissions de resposta, és a dir, de no prémer cap palanca. D'aquesta manera no s'observa amb tanta força la correlació entre el percentatge de respostes correctes i la preferència a una de les palanques. En canvi, com s'aprecia a la taula 22, el nombre d'omissions resulta mostrar fortes diferències entre els grups i estar vinculada estretament amb el rendiment de la tasca.

La variable dependent de la preferència per una palanca es correspon a la diferència entre les vegades que es prem la palanca dreta i les vegades que es prem al palanca esquerra. Per aquest motiu aquesta variable pot prendre valors positius (preferència per la palanca dreta) o valors negatius (preferència per la palanca esquerra). Per tal de resoldre aquest contratemps es pot optar per convertir els valors de la variable a nombres absoluts (tots positius). Així s'obté una variable que representa la preferència dels animals per qualsevol de les palanques per sobre de la palanca oposada (sense distinció). Així doncs la correlació de Pearson descrita en la Taula 23 té la seva versió en termes absoluts en la Taula 24.

Sessió	Correlació de Pearson	Significació
1	0,108	0,515
2	0,065	0,693
3	-0,085	0,609
4	-0,079	0,637
5	-0,008	0,964
6	-0,080	0,655
7	0,003	0,986
8	-0,063	0,746
9	0,032	0,872
10	-0,055	0,787
11	-0,084	0,678
12	-0,156	0,448
13	-0,012	0,956
14	0,089	0,695
15	-----	-----

**TAULA 24.** Correlació de Pearson i grau de significació entre les variables “percentatge de respostes correctes” i “preferència per qualsevol de les palanques” (sense distinció), en la tasca d’adquisició de la DVA.

Tot i que no s’observa cap significació alta en les correlacions de Pearson per cada una de les sessions de la tasca, sí que hi ha un important nivell de significació entre la preferència per una de les palanques global de totes les sessions i la sessió en que l’animal assoleix el criteri d’aprenentatge ( $P < 0,001$ ).

#### Anàlisi de la tasca de Reversió de la DVA

#### **Anàlisi de la Supervivència**

El mateix anàlisi estadístic descrit en l’apartat anterior s’ha realitzat per comparar el rendiment entre els grups experimentals també en la tasca de reversió de la DVA, la qual recordem que consisteix en un canvi de la contingència del condicionament instrumental adquirit en la tasca d’adquisició de la DVA. D’aquesta manera en la tasca de reversió de la DVA els subjectes han d’assolir el mateix criteri d’aprenentatge, però en aquesta ocasió per aconseguir el reforç positiu (pellets) han de dirigir la seva resposta conductual sobre la palanca no senyalitzada amb l’estímul lumínic. S’espera que d’aquesta manera es pugui posar a prova la flexibilitat cognitiva del subjecte.

És evident que la tasca de reversió és més complexa d’assimilar per l’animal, especialment després de passar varies sessions en la tasca d’adquisició i assolir el criteri d’aprenentatge d’aquella etapa. Per aquest motiu, el nombre de sessions disponibles per assolir el criteri d’aprenentatge són vint-i-cinc sessions.

Grup exp.	N total	N d' esdeveniments	% d' assoliment
PBS-PBS	4	3	75,0%
DCS-PBS	13	8	61,5%
DCS-MUSCIMOL	3	1	33,3%
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>12</b>	<b>60,0%</b>

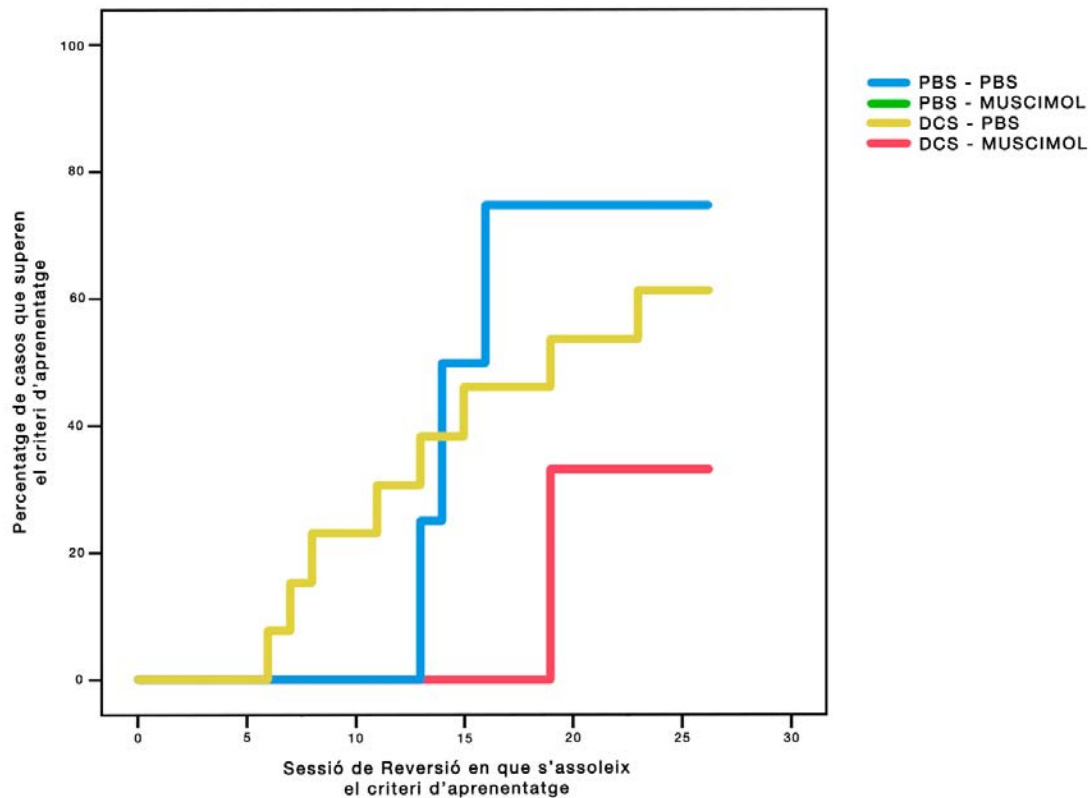
**TAULA 18.** Recull del nombre total de subjectes de cada grup experimental i el nombre i percentatge corresponent de subjectes de cada grup que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA.

Els resultats obtinguts (Taula 18) mostren el nombre d'esdeveniments presentats en cada grup experimental, és a dir el nombre de rates que superen el criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA dins dels vint-i-cinc dies disponibles. Per altra banda també disposem de la sessió concreta en la que els subjectes que pertanyen a cada grup experimental assolien el criteri d'aprenentatge, així com els subjectes que no varen assolir el criteri d'aprenentatge d'aquesta darrera fase del experiment (Taula 19).

Grup exp.		Temps	Estatus
PBS-PBS	1	13	Assolit
	2	14	Assolit
	3	16	Assolit
	4	--	No assolit
DCS-PBS	1	6	Assolit
	2	7	Assolit
	3	8	Assolit
	4	11	Assolit
	5	13	Assolit
	6	15	Assolit
	7	19	Assolit
	8	23	Assolit
	9	--	No assolit
	10	--	No assolit
	11	--	No assolit
	12	--	No assolit
	13	--	No assolit
DCS-MUSCIMOL	1	19	Assolit
	2	--	No assolit
	3	--	No assolit

**TAULA 19.** Recull dels subjectes de cada grup experimental que varen assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA (caselles de color verd), així com la sessió experimental en la qual es va donar tal assoliment (columna Temps).

Amb la important reducció de la mostra que comporta aquest tipus d'experiment en la fase final, i el fet de no comptar amb el grup experimental que proporcionava major diferència entre grups experimentals, no facilita l'obtenció de resultats estadísticament significatius (Breslow,  $X^2(2, N=20)=1,039, p=0,520$ ); s'obté un grau de significació nul, estadísticament parlant. En la figura 13 es representa la corba de supervivència per a cadascun dels grups experimentals analitzats.



**FIGURA 13.** Gràfic d'anàlisi de la supervivència en l'assoliment del criteri d'aprenentatge de la tasca de reversió de la DVA en l'Experiment 2.

## Comparació de mitjanes

Els mateixos anàlisis de comparació de mitjanes que s'han realitzat en la tasca d'adquisició de la DVA també s'han realitzat en la tasca de reversió de la DVA. Per tant també s'ha posat a prova el paper de la pertinença a un grup experimental en cada un dels àmbits conductuals monitoritzats mitjançant el protocol de les *Skinner Boxes*: percentatge de respostes correctes, nombre d'omissions, errors "de palanca", latència en respostes correctes, latència en respostes incorrectes, latència en conducta d'ingesta i preferència per una palanca. No obstant, cal tenir en compte que degut al establiment d'un criteri d'aprenentatge en la tasca d'adquisició de la DVA, així com un límit de sessions per assolir aquest criteri, es produeix una notable pèrdua de subjectes de la mostra vàlida. D'aquesta manera, en l'anàlisi estadístic de la tasca de reversió només es disposa de les dades de vint-i-dos subjectes, i aquesta reduïda mostra segueix minvant al llarg de les sessions de la tasca de reversió. També val a dir, que el nombre de subjectes que pertanyen a cada grup experimental és relativament desequilibrat si es compara amb la mostra que va iniciar la tasca d'adquisició de la DVA.

La taula 25 mostra el grau de significació de la comparació de mitjanes entre els grups experimentals en els àmbits conductuals estudiats en la tasca de reversió de la DVA.

Sessió	%resp. correctes	N. d'omissions	Error "de palanca"	L. resp. correctes	L. resp. incorrectes	L. conducta d'ingesta	Pref. Per una palanca
1	0,459	0,001	0,001	0,015	0,037	0,299	0,692
2	0,685	0,745	0,265	0,825	0,370	0,839	0,360
3	0,838	0,587	0,859	0,869	0,988	0,562	0,376
4	0,428	0,447	0,741	0,773	0,850	0,545	0,838
5	0,460	0,282	0,444	0,575	0,602	0,893	0,541
6	0,772	0,760	0,328	0,187	0,438	0,999	0,691
7	0,448	0,381	0,267	0,242	0,227	0,715	0,533
8	0,223	0,615	0,556	0,850	0,817	0,201	0,769
9	0,214	0,541	0,259	0,578	0,350	0,049	0,511
10	0,410	0,687	0,391	0,098	0,315	0,586	0,372
11	0,247	0,609	0,188	0,588	0,177	0,180	0,302
12	0,173	0,457	0,181	0,067	0,315	0,081	0,235
13	0,639	0,420	0,201	0,201	0,107	0,105	0,735
14	0,386	0,537	0,515	0,839	0,719	0,370	0,796
15	0,841	0,413	0,648	0,673	0,643	0,695	0,648
16	0,708	0,182	0,520	0,641	0,099	0,808	0,724
17	0,318	0,265	0,236	0,199	0,156	0,706	0,544
18	0,722	0,337	0,396	0,014	0,222	0,496	0,634
19	0,418	0,553	0,393	0,441	0,451	0,274	0,682
20	0,041	0,628	0,075	0,075	0,312	0,443	0,661
21	0,074	0,374	0,051	0,038	0,143	0,664	0,464
22	0,073	0,543	0,058	0,367	0,111	0,588	0,372
23	0,125	0,557	0,145	0,097	0,576	0,447	0,322
24	0,114	0,643	0,197	0,932	0,392	0,516	0,394
25	--	--	--	--	--	--	--

**TAULA 25.** Índex de significació de les comparacions de mitjanes dels diferents àmbits conductuals de la tasca de reversió de la DVA. En verd es troben senyalitzades els índex estadísticament significatius.

Sessió	Correlació de Pearson	Significació
1	0,482	0,031
2	0,273	0,245
3	0,044	0,855
4	0,235	0,318
5	-0,288	0,218
6	0,033	0,890
7	-0,254	0,294
8	-0,314	0,204
9	0,054	0,836
10	-0,353	0,164
11	-0,237	0,360
12	-0,435	0,092
13	-0,385	0,140
14	-0,349	0,221
15	-0,617	0,025
16	-0,716	0,009
17	-0,380	0,248
18	-0,593	0,055
19	-0,484	0,132
20	-0,322	0,398
21	-0,583	0,099
22	0,205	0,597
23	-0,536	0,137
24	-0,612	0,107
25	----	----

**TAULA 26.** Correlació de Pearson i grau de significació entre les variables “percentatge de respostes correctes” i “preferència per qualsevol de les palanques” (sense distinció), en la tasca de reversió de la DVA.

Tot i que quasi no s’observen graus de significació alta en les correlacions de Pearson per cada una de les sessions de la tasca, sí que hi ha un important nivell de significació entre la preferència per una de les palanques global de totes les sessions i la sessió en que l’animal assoleix el criteri d’aprenentatge ( $P=0,008$ ).

Observant les dades obtingudes dels anàlisis de comparació de mitjanes (Taula 25) podem veure com l’efecte de la pèrdua de mostra en la tasca d’adquisició produeix una davallada en la sensibilitat de l’eina estadística i quasi no s’observen diferències significatives entre grups en els àmbits cognitius estudiats. Cal tenir en compte, que la majoria de subjectes amb un baix rendiment, que proporcionaven majors diferències entre grups han quedat descartats per participar en la tasca de reversió de la DVA, ja que primerament no han assolit el criteri d’aprenentatge en la tasca d’adquisició de la DVA.



### Tasca de camp obert

Amb la intenció de descartar un possible efecte del tractament de muscimol i/o la DCS sobre la conducta motora dels subjectes, una mostra d'ells (PBS – PBS (N=1), PBS – MUSCIMOL (N=3), DCS – PBS (N=14) i DCS – MUSCIMOL (N=11)) varen ser seleccionats per sotmetre's a un test en un laberint de camp obert durant 10 minuts, tal i com es descriu al l'apartat Materials i mètodes d'aquest treball. S'observen diferències significatives entre els grups experimentals en els paramatres de distància recorreguda ( $F(3,29)=3,334$ ;  $p=0,036$ ) i velocitat ( $F(3,29)=3,328$ ;  $p=0,036$ ), però no en el nombre de transicions entre àrees ( $F(3,29)=0,358$ ;  $p=0,784$ ). Sembla ser que l'efecte individual de la DCS sobre el CPL potencia l'activitat motora dels animals.

## V. DISCUSSIÓ

Qualsevol treball científic o amb una mínima intencionalitat productiva de coneixement ha de sotmetre's a un procés d'autoanàlisi i reflexió final. Només així es posa en evidència la intensitat descriptiva de la investigació realitzada, i la seva capacitat d'exposar de manera sintetitzada i clara la conclusió provisional d'una hipòtesis prèviament plantejada. En aquest sentit cal observar els objectius principals i valorar la resolució d'aquests com una fórmula d'articular un diàleg constructiu que integri el present treball en la literatura existent i es generin nous camins a explorar, atenent a les mancances detectades o qüestions fins ara ignorades.

El present treball ha dirigit els seus esforços a confirmar la hipòtesis: *“La modulació glutamatèrgica al còrtex prelímbic (CPL) afecta positivament sobre els processos d'aprenentatge i memòria, essent capaç de revertir el dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal de la influència del nucli parafascicular (PF) del tàlem sobre l'escorça prefrontal”*, avaluant els objectius experimentals plantejats com a guió dels experiments 1 i 2 d'aquest treball. No obstant, cal tenir en compte que els ingredients implicats en aquesta equació biològica poden prendre molts i variats valors en funció de les circumstàncies i diferències individuals dels subjectes; de la mateixa manera, que cal fer esment del caràcter heterogeni dels resultats recopilats en la literatura dels últims vint o trenta anys.

Per poder avaluar el paper de la via tàlamo-cortical en processos complexos d'aprenentatge de conductes dirigides a objectius s'ha hagut de diseccionar els elements implicats a través del marc teòric descrit (veure apartat III), començant per el nucli PF. Aquesta regió particular forma part del complex IL del tàlem, una estructura que igual que la línia mitja del tàlem rep denses innervacions moduladores procedents de moltes zones del sistema nerviós central (SCN), i alhora es troba connectada a àrees executives com el CPFm i els ganglis basals (Varela, 2014). Per altra banda també s'ha procurat valorar el paper del CPFm, i especialment el CPL, en les tasques cognitives proposades amb la intenció de posar a prova el seu potencial com a diana terapèutica per l'acció del fàrmac DCS (agonista rNMDA pel lloc d'unió de la glicina). Per tant, a mode connectiu, també hem tractat la naturalesa dels receptors glutamatèrgics de tipus NMDA, doncs les principals eferències del nucli PF són activadores de tipus glutamatèrgic i es dirigeixen principalment al CPL i CIL (Quiroz-Padilla et al., 2010), al nucli estriat (Lacey et al., 2007) i al nucli subtalàmic, exercint control indirecte sobre els ganglis basals (Kita et al., 2016).

En termes més pràctics, el nostre treball havia de procurar una condició experimental òptima per confirmar la hipòtesis i així revelar almenys part de les funcions de la via talamo-cortical. Per aquet motiu generar un model animal de dèficit cognitiu basat en una estructura bàsica de la via esmentada resultava ser una bona estratègia. Els estudis de Quiroz-Padilla i

col·laboradors (2006, 2007 i 2010) aporten indicis d'un paper important del nucli PF en funcions cognitives com l'atenció, l'aprenentatge i la memòria degut a la seva forta vinculació a la modulació de l'arousal cortical. Altres estudis posteriors identifiquen el PF com una mena d'interruptor entre els diferents estats de consciència (Picchioni et al., 2014) o com una estructura que tindria efectes en les associacions de tipus límbic (Kim et al., 2013). Per aquest motiu l'Experiment 1 d'aquest treball actua com una aproximació a la hipòtesis. Inactivant el nucli PF s'esperava un dèficit cognitiu, degut principalment per la influència d'aquest nucli sobre estructures corticals implicades en funcions executives, com és el cas de l'escorça prefrontal medial. A través d'altres estudis es pot interpretar el nucli PF com l'estructura de relleu entre els ganglis basals i el còrtex que proporciona les condicions cognitives òptimes per tal d'inhibir impulsos bàsics i conductes mecanitzades. Així doncs, no es pot entendre com una part indispensable per al condicionament operant, però sí que tindria un rol important en la codificació dels errors al llarg del assajos per tal d'entendre les contingències i refinar la conducta final, evitant l'esforç personal no produent (Minamimoto et al., 2014; Bradfield et al., 2013; Picillo et al., 2017). No obstant, altres estudis advertien un efecte rellevant del nucli PF sobre l'estatus locomotor del animal (Barroso-Chinea et al. 2011; Alan et al., 2014) i per aquest motiu s'ha avaluat també el comportament motor aplicant la prova de laberint de camp obert al finalitzar cada experiment.

### Experiment 1: Efectes de la inactivació del nucli PF sobre la tasca de DVA

Els anàlisis estadístics aplicats en l'Experiment 1 demostren que la inactivació temporal del nucli PF del tàlem, mitjançant l'administració intracerebral de muscimol al nucli, afecta de forma estadísticament significativa en la fase d'adquisició de la DVA, així com també podem comprovar el efecte que produeix sobre els resultats el valor que pren la variable de la durada dels estímuls lluminosos que indiquen la palanca reforçada, la qual pretén proporcionar dos nivells de dificultat a la tasca. D'aquesta manera, amb un primer cop d'ull a l'anàlisi de la supervivència podem observar com entre els grups amb un mateix nivell de dificultat (marcat per la durada de la presentació del estímulo lluminós) existeixen diferències en funció de la presència o absència del tractament gabaèrgic. En general, els grups afectats pel muscimol mostren un menor nombre de subjectes que superen el criteri d'aprenentatge. No obstant, cal remarcar que el nivell de dificultat alt en la tasca (500ms) resulta ser un valor per la variable independent que perjudica el rendiment de l'animal en la tasca, fins el punt que aconseguix fer minvar el grau de diferències entre els grups més perjudicats. Així doncs, el grup control més afavorit (1000ms – PBS) presenta un rendiment significativament superior a la resta de subjectes, especialment en les primeres sessions de la tasca d'adquisició de la DVA, ja que els subjectes que pertanyen a aquest grup i rendien més foren traslladats a la següent tasca abans que la resta, evitant així que poguessin seguir puntuant per sobre de la resta de subjectes. Mitjançant la comparació

de mitjanes en les variables dependents recollides podem veure com el baix rendiment del grup 1000 MUSCIMOL ve donat principalment per un baix percentatge de respostes correctes, un gran nombre d'omissions de resposta (no respondre durant 15 segons després de presentar-se les palanques), latències altes en les respostes de prémer les palanques i buscar el menjar després de la resposta, i una major preferència per prémer una de les dues palanques, mostrant una manca clara d'aprenentatge de la tasca. No obstant, el nombre d'errors comesos per prémer la palanca equivocada és superior en els grups 500ms. Podríem trobar-nos davant d'un efecte nociu de la curta durada del estímul lluminós, una condició que pot provocar que l'animal acceleri el seu comportament i actuï impulsivament, donant respostes sobre les palanques sense un mínim temps de processament del assaig. Per altra, l'anàlisi de supervivència del l'Experiment 1 en la tasca de reversió de la DVA només s'aprecia una tendència significativa comparant els rendiments dels diferents grups. En aquest cas, sembla ser que la tasca resulta tan complicada que al llarg de les primeres 20 sessions es mostra un clar i aïllat efecte del tractament del muscimol sobre el PF, el qual sembla dificultar la capacitat de l'animal de considerar contingències noves o explorar conductes operants més aleatòries, o podem considerar que els subjectes que pertanyen a grups amb pitjor rendiment difícilment conservaven una mostra nombrosa en la tasca de reversió de la DVA, així doncs, les diferències més clares entre grups desapareixen. No obstant, si que podem apreciar una diferència significativa del grup 1000 MUSCIMOL respecte la seva alta latència en el comportament de ingesta després de la resposta operant, donant a entendre que aquest subjectes podrien estar patint algun tipus d'alentiment en la seva conducta fruit de la seves condicions experimentals. En tots els casos podem descartar l'efecte estrany d'una motivació per la ingesta diferent entre els grups experimentals, ja que no s'ha percebut diferències significatives en el percentatge de pes respecte l'inici del experiment, en cap dels registres realitzats. També podem descartar que els resultats obtinguts vinguin donats per una possible afectació motora per part del fàrmac muscimol sobre el nucli PF, doncs els resultats de l'activitat motora en un laberint de camp obert foren iguals que els mostrats pels subjectes que varen rebre infusions intracerebrals de PBS.

Amb aquestes dades podem considerar el tractament de muscimol sobre el PF com una eina per generar models animals de dèficit cognitiu sense recórrer a lesions físiques o químiques. El muscimol presumiblement només inactivarà la regió del PF, però podem inferir que aquest tractament té un poderós efecte sobre les capacitats cognitives del subjecte, degut a la connexió directa de tipus glutamatèrgic que té el nucli PF amb l'escorça prefrontal. S'ha comprovat el poderós paper que té el nucli PF en la modulació del CPFm i el nucli estriat en les demandes cognitives (Schiff, 2016; Mair et al., 2011; Narayanan et al. 2013) i com la seva alta activitat (freqüències altes) facilita la integració de informació en les neurones piramidals de l'escorça (Jones, 2009), mentre la lesió del PF podria perjudicar la generació d'ones theta de l'escorça (Marini et al., 1998). Sense recórrer a lesions del nucli PF, i mitjançant la inactivació d'aquest fent servir

l'administració de intracerebral de fàrmacs gabaèrgics (com en el nostre treball), altres investigadors també senyalen l'efecte de l'activitat del nucli PF en l'alliberació de neurotransmissors en l'escorça, concretament acetilcolina en l'estriat en condicions de flexibilitat cognitiva (Brown et al., 2010; Kato et al., 2011). Aquests i altres indicis esmentats anteriorment (veure apartat III) ens donen una perspectiva ampla de les implicacions del PF en diferents àrees cognitives. Degut a la modulació que exerceix sobre múltiples estructures de l'escorça prefrontal el nucli PF no només s'ha relacionat amb flexibilitat cognitiva, sinó també amb les funcions cognitives estretament relacionades amb aquesta, com són l'atenció (Kinomura et al., 1996, Hulme et al., 2010; Paus et al., 1997), l'aprenentatge i l'activitat dirigida a objectius (Quiroz-Padilla et al., 2010; Bradfield et al., 2013; Bradfield i Balleine, 2017) i diferents tipus de memòria: implícita i relacional (Quiroz-Padilla et al., 2006 i 2007; Castiblanco-Piñeros et al., 2011). Per tant, podem considerar que en el nostre treball la inactivació temporal del nucli PF pot estar perjudicant la correcta activitat de les estructures de l'escorça prefrontal i l'estriat, afectant principalment a les capacitats cognitives de l'animal en la tasca de la DVA. Varis investigadors ressalten el paper del nucli PF com a estructura clau en els canvis d'estat de consciència i en la modulació del nivell d'atenció de l'animal. Aquests dos aspectes són primaris per el bon rendiment en les tasques amb demanda cognitiva, doncs si un subjecte no atent correctament a la seva situació experimental o no percep adequadament la presentació dels estímuls que ha d'interpretar no podrà mostrar aprenentatge de contingències i memorització d'aquestes, així com la valoració interna del biaix entre l'esforç de l'acció i la recompensa a percebre (Minamimoto et al., 2014). Aquesta valoració interna que faria l'animal suposaria l'últim pas en la conducta final de l'animal i s'encarregaria de proporcionar unes condicions cognitives per una bona elecció i la inhibició de les conductes mecanitzades. Esperem que aquest factor prengui rellevància en la tasca de reversió, en la que es canvien les contingències, però també és molt important en la tasca d'adquisició de la DVA, doncs la presentació aleatòria de la palanca reforçada obliga a l'animal a atendre al entorn i a interpretar aquest de nou en cada assaig, encara que la contingència no canviï. Així doncs, la tasca de DVA, amb una important demanda atencional, posa a prova les condicions experimentals dels animals, els quals si es troben afectats per l'acció del muscimol sobre el nucli PF poden mostrar un baix rendiment en la tasca, doncs la innervació glutamatèrgica del nucli PF sobre l'escorça s'estén ampliament, modulant l'activitat d'un gran nombre d'estructures cognitives. La inactivació del nucli PF, podria estar afectant fins i tot als nivells de subunitat GluN1 dels receptors NMDA del cingulat i l'escorça prefrontal (Fernández-Cabrera et al., 2017) i donar a entendre que aquests receptors tenen un paper pro-cognitiu sensible als inputs procedents del nucli PF.

En el Experiment 1, vàrem establir dos nivells de dificultat amb la finalitat de comprovar com l'administració de muscimol en el PF podria interactuar amb les exigències atencionals de dos durades diferents dels estímuls lluminosos. En el plantejament era lògic imaginar que el grup amb un nivell de dificultat major (500ms MUSCIMOL) mostrés un rendiment molt inferior a la resta

grups. No obstant, en la tasca d'adquisició de la DVA els dos grups amb una durada de l'estímul de 500ms foren equivalents, i fins i tot amb un lleuger avantatge del grup afectat pel fàrmac per sobre del grup control. Sembla ser que l'exigència atencional d'un estímul de tan poca durada igualava el rendiment dels subjectes d'ambdós grups. No obstant, observant els resultats obtinguts en la tasca de reversió de la DVA, podem apreciar com els dos grups de 500ms igualen puntuacions de rendiment en l'anàlisi de la supervivència, i fins i tot arriben a superar al grup més afavorit (1000ms PBS) en el percentatge de subjectes que superen el criteri d'aprenentatge. Aquest fenomen podria donar-nos pistes d'un possible efecte protector de la durada del estímul. És a dir, l'estímul lluminós amb una durada de 500ms força l'animal a focalitzar la seva atenció en la tasca d'una manera més activa; els subjectes no perden el nivell de concentració en la tasca i aquesta implicació extra acaba suposant una millora en la seva capacitat per resoldre les tasca. L'exigència atencional que suposa un estímul més curt es converteix en un entrenament afegit que es desenvolupa al llarg de les sessions. En el Experiment 2 es descarta l'ús de diferents nivells de dificultat, doncs sembla ser que estímuls lluminosos de 500ms de durada suposen un repte per l'atenció, difícil de superar fins i tot en animals control, i per tant podrien perjudicar la interpretació de les dades.

Finalment, en la llista de dades no contemplades en un inici, es troba la dilatació del temps entre la resposta correcta del subjecte i la seva conducta de ficar el cap en el receptacle per iniciar la conducta de menjar el pellet de reforç. En l'Experiment 1, aquest fenomen es troba en la tasca d'adquisició de la DVA sense destacar de la resta d'àmbits conductuals registrats, però les diferències entre grups en aquesta latència es conserven en la tasca de reversió de la DVA, mentre no ho fan en la resta d'àmbits conductuals registrats. Podem observar com el grup 1000ms MUSCIMOL mostra una latència significativament major que la resta de grups, suggerint un possible efecte compost per una exigència atencional laxa (1000ms) i un efecte negatiu del muscimol en el nucli PF sobre l'activitat motora del animal. Per tant, atenent a que el test de camp obert no va mostrar diferències significatives entre grups, podem deduir, que els efectes negatius en la conducta locomotora que podrien provocar el muscimol en el nucli PF requereixen de un temps mínim per la seva aparició; i per aquest motiu no s'ha detectat aquest efecte en els curts tests de camp obert realitzats (tests de només 10 minuts de duració).

#### Experiment 2: Efectes de la infusió intracerebral de DCS al CPL sobre reversió del dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal del nucli PF del tàlem, en rates

Com ja hem mencionat anteriorment, la influència talàmica i especialment del nucli PF sobre l'escorça prefrontal desemboca en la modulació de l'activitat d'aquest últim i en la possible modulació de les capacitats cognitives dels subjectes. Les lesions del nucli PF provocarien dèficits cognitius associats a

la manca d'activitat en les regions diana de l'escorça prefrontal que són innervades per el nucli PF. En el nostre treball ens hem centrat en el CPL, una estructura molt extensa en el CPFm de les rates, que els investigadors defineixen com l'àrea homòloga a l'escorça prefrontal dorsolateral d'humans i primats no humans (Granon et al., 1998; Vertes, 2004), la qual degut a les seves projeccions al nucli estriat dorsomedial posterior, és una regió crítica en l'aprenentatge dirigit a objectius (Hart i Balleine, 2016) i per aquest motiu d'aquesta estructura podem esperar una important influència sobre el rendiment de l'animal en un protocol experimental de condicionament operant de tipus apetitiu, un tipus de tasca que principalment s'ha relacionat amb el CPFm. Podem confiar que l'estimulació del CPL mitjançant l'administració intracerebral de DCS millori el rendiment en la tasca d'adquisició de la DVA. El mateix tractament també hauria de mostrar efectes similars en la tasca de reversió de la DVA (el nostre protocol de flexibilitat cognitiva), doncs estudis com els de Turi et al. (2016) proposen que l'estimulació de la regió homòloga esquerra en subjectes humans provoca un increment en l'aleatorietat d'elecció, el que podria considerar-se com un estat intern òptim per a detectar noves contingències.

En el nostre experiment cap dels animals que pertanyen al grup PBS-MUSCIMOL va assolir el criteri d'aprenentatge de la DVA en la tasca d'adquisició; mentre els subjectes DCS-PBS i PBS-PBS mostren els millors resultats al no veure's afectats pel dèficit cognitiu que provoca l'administració de muscimol en el nucli PF. Per altra banda, sembla ser que tres subjectes de la mostra inicial d'onze subjectes del grup DCS-MUSCIMOL aconseguix assolir el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA. No obstant, les diferències de rendiment entre aquest grup i el grup PBS-MUSCIMOL no són importants, doncs només són estadísticament significatives en poques sessions, i per tant no es tracta d'una diferència estable. En la tasca d'adquisició de la DVA podem veure com en els animals control (PBS en PF), els subjectes tractats amb DCS al CPL milloren el seu rendiment respecte als subjectes no tractats amb DCS. No obstant les diferències no són estadísticament significatives. El mateix succeeix amb els subjectes amb dèficit cognitiu per inactivació del PF; la DCS pal·lia els efectes del model de dèficit, però d'una manera subtil i en cap cas revertint totalment l'efecte cognitiu de la inactivació del PF. Per tant, les diferències significatives es troben principalment en el moment de comparar els subjectes que pertanyen a grups afectats per la inactivació del PF amb muscimol i els animals sense inactivació del PF. En aquest cas podríem parlar d'una manca d'efecte de la DCS sobre el CPL, o d'un molt poderós efecte del muscimol sobre el nucli PF, que no admet una reversió fàcil; no obstant allò més probable és que la influència del nucli PF sobre l'activitat cognitiva dels subjectes estigui compromesa a més d'una estructura cortical, no només al CPL. Analitzant la comparació de mitjanes entre els grups experimentals per cada una de les variables recollides, podem observar com el grup PBS-MUSCIMOL és el que mostra un pitjor rendiment en la tasca d'adquisició de la DVA, fet que queda reflectit en el seu baix percentatge de respostes correctes i en el seu al nombre

d'omissions de resposta. Aquestes dades són altament coincidents amb les trobades en l'Experiment 1 i donen consistència a la idea que la inhibició de l'atenció és l'àmbit cognitiu més vinculat al dèficit d'activitat del nucli PF. Per altra banda, les latències de resposta o de conducta alimentaria més altes es troben també en el grup PBS-MUSCIMOL. Per altra banda, el grup DCS-PBS és el grup amb un major nombre de respostes correctes en totes les sessions de la tasca d'adquisició de la DVA per sobre de la resta de subjectes, no obstant sembla ser que gran part dels subjectes que formen part d'aquest grup acaben assolint el criteri d'aprenentatge en les últimes sessions, permetent que un gran nombre de subjectes puntuï al llarg de les sessions i marqui una forta diferència, especialment amb els subjectes afectats pel tractament amb muscimol. El grup PBS-PBS en canvi, destaca pel seu baix nombre d'omissions de resposta, i complementàriament per un elevat nombre de respostes incorrectes per prémer la palanca incorrecte. Sembla ser que els animals d'aquest grup, sense cap afectació farmacològica tendeixen a ser els més atents a la tasca, i per tant dins del total de *time outs* la majoria són errors de palanca. L'animal tendeix a contestar la major part dels assajos. Malauradament en la tasca de reversió de la DVA del Experiment 2, la pèrdua d'un grup experimental sencer per no haver superat el criteri d'aprenentatge de la tasca d'adquisició de la DVA i la pèrdua global de subjectes en la resta de grups provoca que les diferències de rendiment entre els subjectes siguin mínimes. Estem parlant de mostres molt petites de subjectes, i un cert efecte de selecció dels subjectes amb millor rendiment a causa de la naturalesa del protocol utilitzat. Els tres grups que han participat en la tasca de reversió de la DVA no poden mostrar diferències de rendiment entre ells.

Al poder observar efectes, encara que discrets, de la DCS sobre el CPL podem dir que els resultats obtinguts en el nostre experiment segueixen la línia marcada per altres investigacions prèvies que també estudiaven el paper del CPFm en tasques de condicionament operant (Killcross i Coutureau, 2003; Maruki et al., 2003) o tasques d'atenció sostinguda i detecció de senyals (Grañon et al., 1999; Williams et al., 1999). No obstant, altres estudis com els de Trask (2017) ens poden donar indicis d'un possible efecte contraproductiu del tractament de la DCS sobre el CPL, ja que una estimulació d'aquesta regió podria enfortir l'efecte de renovació després d'un procés d'extinció. En el nostre estudi el context experimental de les gàbies *Skinner Box* dificultaria que els subjectes canviessin la seva resposta instrumental. A diferència del CIL, el CPL sembla encarregar-se de conservar i reactivar conductes resultat d'aprenentatges adaptatius, ignorant el procés d'extinció i fomentant comportaments poc flexibles. Halladay i Blair (2017) després de valorar treballs precedents resumeixen els papers del CPL i el CIL com dues regions amb funcions antagòniques però amb activitats coexistents. Mentre el CPL fomenta l'execució d'un comportament dirigit a objectius i primari en el sentit evolutiu, el CIL actuaria d'agent controlador d'aquesta activitat mecanitzada per tal d'afavorir la flexibilitat cognitiva. Per tant, si el nostre treball hagués girat únicament entorn la idea d'avaluar les capacitats cognitives de tipus flexible del CPFm, un enfocament més



encertat hauria sigut plantejar una hipòtesis en la que el CIL s'identifiqui com una regió diana d'estimulació mitjançant DCS, i el protocol experimental emprat consistís en un conjunt de sessions experimentals amb contingències aleatòries a cada sessió. En el cas que el rendiment dels subjectes en respostes correctes superés el 50% podríem inferir que l'animal tendeix a estar obert a escollir respostes operants exploratòries, sense restringir-se a actuar com ha après amb anterioritat.

En termes generals el CPFm és considerat una regió clau pel processament cognitiu que desemboca en conductes operants. El gran nombre de innervacions que rep només és equiparat al gran nombre de funcions cognitives amb el qual es relaciona aquesta àrea. La morfologia de les seves connexions és complexa, però a grans trets es pot resumir en circuits activadors de tipus glutamatèrgic i circuits amb menys recorregut i de tipus inhibitori (interneurones gabaèrgiques) que modularien l'activitat dels primers. Així doncs l'elecció final d'un animal enfront dilemes cognitius per complir amb condicionaments operants apetitius o aversius és el resultat final de la combinació d'activacions neuronals de l'escorça prefrontal medial i els patrons elèctrics generats en el procés. El plantejament inicial d'aquest treball i el de molts altres abans, es sustenta en el convenciment que el gran nombre de receptors NMDA (glutamatèrgics i ionotròpics) que es troben en el CPFm són una clara diana terapèutica per procurar potenciar les funcions cognitives d'aquesta àrea fent ús d'agonistes com la DCS. Tot sembla apuntar a una lògica simple per la qual un fàrmac amb un nivell d'afinitat equivalent al de la glicina (agonista endogen) i uns receptors de resposta simple (obertura directa de canals de  $Ca^{2+}$ ) dona lloc a activacions poderoses dels circuits implicats en la millor i més eficient presa de decisions en la cerca d'objectius. No obstant, cal tenir en compte que les diferents regions del CPFm, entre elles el CPL, poden mostrar indicis d'especificitat funcional més o menys evidents degut principalment a factors com la densitat de receptors o la combinació de subunitats que els componen (veure apartat III). Així doncs, els rNMDA poden donar lloc a patrons d'activitat diferents en funció de molts factors. Fins i tot, les circumstàncies ambientals o les experiències del subjecte poden afectar a l'expressió de les proteïnes que componen els receptors esmentats. Per exemple, varis estudis han comprovat com certes subunitats dels rNMDA pateixen una regulació a la llarga fruit d'aprenentatges d'extinció, suggerint un cert efecte PLT, i que la DCS administrada conjuntament a les sessions d'extinció provoca una facilitació de l'aprenentatge i una reconfiguració dels nivells de subunitats rNMDA en el CPFm (Saridžgan et al. 2015), descrivint un increment de la proteïna GluN1 en el grup de subjectes que ha gaudit del tractament de DCS posterior al entrenament d'extinció. Es tractaria d'un possible efecte de la DCS depenent del nivell de consolidació del aprenentatge previ a l'administració del tractament. No obstant, no hi ha consens entre els diferents treballs al respecte aquest efecte de la DCS, ja que alguns dels treballs indiquen que el tractament de DCS combinat amb l'extinció no suposa diferències significatives en l'expressió de proteïnes respecte als

subjectes que només han seguit l'entrenament d'extinció (Gupta et al., 2013; Sierra et al., 2016; Gerwitz et al., 1997).

La DCS ha actuat en nombrosos precedents experimentals com un tractament facilitador en processos cognitius-conductuals; una mena de catalitzador per accelerar l'aprenentatge adaptatiu. No obstant, la varietat d'investigacions que posen a prova l'efecte de la DCS semblen discrepar en el tipus de memòries en les que els subjectes són més beneficiats. Mentre alguns estudis defensen un específic efecte sobre les memòries de tipus declaratiu, altres consideren que el major benefici es troba en proves de memòria procedimental o emocional. Així doncs parlem de resultats contradictoris en la recent literatura recollida, doncs probablement la via d'administració, el moment d'aquesta o les exigències de les proves donen lloc a heterogeneïtat de resultats. En la majoria dels estudis de la DCS es duen a terme administracions sistèmiques que dificulten disposar de dades especialment clares. No obstant els indicis apunten que la DCS facilita que l'animal no segueixi patrons de comportament rígid i disposi d'una cognició flexible, amb tots els avantatges i inconvenients que això suposa. Per tant, en principi, la DCS hauria de ser principalment indicada com un fàrmac per millorar el rendiment en la flexibilitat cognitiva, però encara són molts els estudis ha realitzar per la comunitat científica per concloure la cerca de potencials usos y combinacions terapèutiques que ens pot oferir aquest component. Amb la intenció de minimitzar el nombre de factors estranys que poden afectar sobre l'efecte final de la DCS, en el nostre estudi, s'ha optat per un tipus d'administració intracerebral. Mitjançant la implantació d'una cànula guia bilateral situada en la regió diana del cervell esperem millorar l'afinitat del tractament i l'especificitat de la seva acció terapèutica.

En el nostre treball, principalment seguim la línia dels experiments realitzats amb anterioritat en el nostre laboratori per part del nostre grup d'investigació per tal d'incrementar la consistència de les troballes. Variant certs aspectes d'un disseny experimental i conservant altres elements d'aquest podem esbossar millor el funcionament específic d'un fàrmac i les regions cerebrals implicades en la prova. Per exemple, l'estudi de Villarejo-Rodríguez et al. (2013) proven l'efecte de la DCS sobre el CPL, i hipotetitzen una possible reversió d'un model de dèficit cognitiu a partir de la manipulació del nucli PF. No obstant, la diferència de resultats pot venir donada per les variacions que s'incorporen en el nostre treball. Mentre l'estudi de Villarejo et al. (2013) basa el seu model de dèficit cognitiu en la lesió permanent del nucli PF, el nostre estudi s'aventura en l'ús de la inactivació temporal del PF mitjançant un fàrmac agonista dels receptors GABA<sub>A</sub>. Això podria donar lloc a una certa inestabilitat del nostre model de dèficit, ja que al llarg de les sessions experimentals cada administració pot mostrar diferències respecte les anteriors o les següents. Un major nombre de subjectes podria reduir aquesta variable estranya tan difícil de controlar. Per altra banda, una de les variacions més fortes respecte altres estudis del nostre grup de recerca és el protocol experimental utilitzat: les tasques d'adquisició i reversió de la DVA; que a priori posarien a prova capacitats cognitives més complexes o menys

primàries en les que no entren en joc aprenentatges basats en la generació d'ansietat en l'animal, la presentació d'estímuls aversius, ni impliquen l'ús de sentits filogenèticament més bàsics, com és el cas de l'olfacte en la tasca de discriminació olfactiva o la transmissió social d'olors (Villarejo- Rodriguez et al., 2013; Portero-Tresserra et al., 2013).

Com ja s'ha esmentat anteriorment, el dèficit cognitiu induït mitjançant la infusió intracerebral del muscimol en el nucli PF és un efecte de difícil reversió. La causa més probable d'aquest fenomen es trobi en la vinculació de la tasca emprada (la DVA) no només amb una estructura del còrtex prefrontal, sinó en varies. Per tant, l'administració de DCS sobre el CPL, tot i mostrar una certa millora sobre els subjectes tant sans com afectats pel dèficit cognitiu, no sembla ser suficient per revertir de manera completa el dèficit. Es tracta d'una fet esperable tenint en compte la densa i extensa innervació procedent del nucli PF. Per altra banda cal destacar un fenomen descrit de manera generalitzada per part de no pocs investigadors: l'administració repetida de DCS pot generar tolerància per part de l'animal i reduir dràsticament el seu efecte sobre la conducta (Parnas et al., 2005). Tot i que els beneficis que aporta la DCS són dosi dependent (Walker et al., 2002) és fàcil trobar un efecte sostre en la corba dosi-resposta com en tots els agonistes que acaben per saturar un receptor. Però en el cas de la DCS també observem un efecte negatiu de l'administració crònica del fàrmac, doncs s'ha pogut constatar que una menor freqüència i un menor nombre d'administracions té un efecte major sobre el rendiment en les tasques cognitives a les que es posen a prova els subjectes. Els receptors podrien dessensibilitzar-se fins aconseguir que una administració crònica desemboqui en resultats equivalents al placebo (Saridoğgan et al. 2015; Schade i Paulus, 2016). Goff (2016) proposa que les dosis elevades i repetides afecten a masses dels receptors disponibles, augmentant la probabilitat que la DCS actui sobre les subunitats GluN2B amb un perfil antagonista per als rNMDA. Sens dubte, el fenomen de la tolerància a la DCS dels subjectes a través d'administracions cròniques entra en conflicte directe amb el protocol utilitzat en els nostres experiments. En un màxim de 15 sessions en la tasca d'adquisició de la DVA i un màxim de 27 sessions (2+25) en la tasca de reversió de la DVA els animals han rebut dosis diàries de DCS sobre el CPL sense canvis en les proporcions de la solució infosa a través de les cànules. Per aquest motiu, és molt probable que el possible efecte de la DCS sobre els subjectes experimentals s'hagi vist reduït, especialment durant les últimes sessions. En futures investigacions cal tenir en compte aquest efecte de la tolerància i invertir part dels esforços en esbrinar el llindar en el que s'evidencia l'efecte de la tolerància a la DCS i reajustar el protocol en conseqüència per tal d'obtenir dades sense biaixos.

En l'Experiment 2, la DCS respon com cabia esperar després d'analitzar la literatura existent. Els subjectes estimulats al CPL per l'administració intracerebral de DCS no mostren diferències significatives respecte al grup control; i aquesta manca d'efecte probablement vingui donada per l'efecte de la tolerància i/o per la regió diana del tractament, la qual, a diferència del

CIL, no es vincula de manera específica amb la flexibilitat cognitiva. Per altra banda, també en l'Experiment 2, concretament en la tasca d'adquisició de la DVA, unes dades que no esperàvem trobar escriuen noves incògnites. Revisant les comparacions de mitjanes entre grups del percentatge de respostes correctes i del nombre d'omissions s'observa que ambdós àmbits cognitius es troben emparellats en els nivells de significació, mentre no s'observen tals diferències entre grups en el nombre d'errors comesos per prémer la palanca incorrecte. Per tant, a diferència d'allò observat en l'Experiment 1, els subjectes amb pitjor rendiment del Experiment 2 deuen aquests mals resultats a l'omissió de respostes. Probablement aquests subjectes no arriben a superar la tasca d'adquisició i per aquest motiu el fenomen esmentat no es troba en la tasca de reversió. Sembla ser que els subjectes afectats pel model de dèficit cognitiu es troben especialment afectats, i que la doble intervenció esterotàxica pot suposar un dany en la regió CPL que els provocaria una certa desconexió atencional a la tasca i un pitjor rendiment en comparació als subjectes del model de dèficit cognitiu del Experiment 1, i fins i tot podria explicar perquè els resultats de l'administració de DCS en el grup DCS-PBS no genera tantes diferències com cabria esperar respecte el grup PBS-PBS, o els membres d'ambdós grups ofereixin puntuacions molt altes des de les primeres sessions de la tasca d'adquisició de la DVA, però triguin a superar el llindar del criteri d'assoliment de l'aprenentatge que els retiraria de la tasca.

Finalment cal destacar, que una de les possibles raons per un manca d'efecte de la DCS sobre el CPL en les tasques que requereixen flexibilitat cognitiva en la DVA pot ser el fet que la CPL no estigui vinculada a flexibilitat cognitiva intramodal. És a dir, que la CPL tingui un paper important en la flexibilitat cognitiva només en les tasques en que els canvis de contingència vinguin acompanyats de canvis en la modalitat de l'aprenentatge i/o la modalitat dels estímuls (Birrell i Brown, 2000; Boulougouris et al., 2007; Chudasama et al., 2001; de Bruin et al., 1994; Joel et al., 1997a; Ragozzino et al., 1999a; 1999b; 2003).

Aquestes dades, així com les incògnites que poden inspirar, s'han d'interpretar com les llavors d'investigacions a realitzar en un futur, ja sigui amb la intenció de refinar la metodologia emprada o amb l'objectiu d'explorar noves hipòtesis; i principalment han de suposar punts de referència per profunditzar en la investigació de les relacions anatòmiques i funcionals que es troben entre les estructures cerebrals, doncs només així la ciència s'aproxima a descobrir el veritable funcionament de les nostres capacitats com a éssers intel·ligents.

## VI. CONCLUSIONS

1. La inactivació temporal del nucli PF del tàlem mitjançant l'administració intracerebral del muscimol, al nucli PF del tàlem abans de cada sessió experimental de les tasques d'adquisició i reversió de la DVA impedeix el correcte assoliment del criteri d'aprenentatge establert. Aquest efecte es pot atribuir a la influència glutamatèrgica del nucli PF sobre el CPFm, i el vincle d'aquest últim amb la tasca.
2. El rendiment en la tasca de DVA es veu afectat pel grau de dificultat de la tasca que proporcionen les diferents durades dels estímuls lluminosos que indiquen les palanques reforçades. Estímuls de 500ms suposen més dificultat que estímuls de 1000ms. Per tant la tasca de DVA té un important factor atencional.
3. El dèficit cognitiu induït mitjançant la inactivació temporal del PF comporta un augment del nombre d'omissions en les respostes. Aquest efecte es pot atribuir a un dèficit en l'atenció, i s'intensifica en els subjectes que han estat sotmesos a una doble cirurgia per implantar cànules bilaterals: a el nucli PF i al CPL.
4. El dèficit cognitiu mitjançant la inactivació temporal del PF produeix un augment del nombre de respostes incorrectes per prémer la palanca no reforçada i un augment en les latències de resposta (prémer la palanca) i la conducta de ingesta (menjar després de prémer la palanca).
5. L'administració de DCS, un agonista parcial dels rNMDA, al CPL facilita la tasca d'adquisició de la DVA en subjectes sans i amb dèficit cognitiu induït per la inactivació temporal del nucli PF. Però no suposa una diferència significativa dins de cada categoria de tractament del nucli PF (PBS vs MUSCIMOL).
6. La DCS administrada en el CPL facilita de forma significativa la tasca de DVA. Aquest efecte es pot atribuir a la modulació glutamatèrgica de processos cognitius dependents del CPFm.
7. La DCS en el CPL té tendència a revertir el dèficit cognitiu per inactivació temporal del PF en la tasca de la DVA. Aquest efecte s'atribueix a la influència del PF sobre el CPL. Probablement les capacitats cognitives implicades en la DVA estiguin vinculades amb més estructures del CPFm, també innervades pel nucli PF.
8. Els resultats obtinguts en els experiments realitzats, no poden ser atribuïts a canvis en el pes dels subjectes com a conseqüència de la restricció alimentària i, per tant, a aspectes motivacionals.

## VII. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

- Abraham, W.C., Gustafsson, B., Wigström, H., (1986). Single high strength afferent volleys can produce long-term potentiation in the hippocampus in vitro. *Neurosci. Lett.* 70, 217e222.
- Adeleye, A., Shohami, E., Nachman, D., Alexandrovich, A., Trembovler, V., Yaka, R., Shoshan, Y., et al. (2010). D-cycloserine improves functional outcome after traumatic brain injury with wide therapeutic window. *European journal of pharmacology*, 629(1-3), 25–30.
- Aggleton, J. P., Neave, N., Nagle, S., & Sahgal, A. (1995). A comparison of the effects of medial prefrontal, cingulate cortex, and cingulum bundle lesions on tests of spatial memory: evidence of a double dissociation between frontal and cingulum bundle contributions. *Journal of Neuroscience*, 15(11), 7270-7281.
- Ahlenius, S. (1978). Potentiation by haloperidol of the catalepsy produced by lesions in the parafascicular nucleus of the rat. *Brain research*, 150(3), 648-652.
- Akinyemi, A.J., Okonkwo, P.K., Faboya, O.A., Onnikanni, S.A., Fadaka, A., Olayide, I., Akinyemi, E.O., & Oboh, G. (2017). Curcumin improves episodic memory impairment through inhibition of acetylcholinesterase and adenosine deaminase activities in a rat model. *Metabolic Brain Disease*, 32(1), 87-95.
- Akirav, Irit. (2007). NMDA Partial agonist reverses blocking of extinction of aversive memory by GABA(A) agonist in the amygdala. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 32(3), 542–50.
- Akirav, Irit, & Maroun, M. (2006). Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cerebral cortex*, 16(12), 1759–65.
- Akirav, I., & Maroun, M. (2007). The role of the medial prefrontal cortex-amygdala circuit in stress effects on the extinction of fear. *Neural plasticity*, 2007.
- Akirav, Irit, Segev, A., Motanis, H., & Maroun, M. (2009). D-cycloserine into the BLA reverses the impairing effects of exposure to stress on the extinction of contextual fear, but not conditioned taste aversion. *Learning & memory*, 16(11), 682–6.
- Alan, M., Capelle, H.H., Schwabe, K., & Krauss, J.K. (2014). Effect of deep brain stimulation on levodopa-induced dyskinesia and striatal oscillatory local potentials in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Stimul*, 7, 13-20.
- Albelda, N., Bar-On, N., & Joel, D. (2010). The role of NMDA receptors in the signal attenuation rat model of obsessive-compulsive disorder. *Psychopharmacology*, 210(1), 13–24.
- Andreasen, J.T., Fitzpatrick, C.M., Larsen, M., Skovgaard, L., Nielsen, S.D., Clausen, R.P., Troelsen, K., & Pickering, D.S. (2015). Differential role of AMPA receptors in mouse tests of antidepressant and anxiolytic action. *Brain Research*, 1601, 117-126.
- Arévalo-Sáenz, A., Torres, C.V., Pastor, J., Alonso-Cerezo, C., & Sola, R.G. (2015). Stimulation of the centromedian nucleus in refractory epilepsy associated to ring chromosome 20. *Revista de Neurología*, 60(12), 548-52.
- Arnsten, A. F. (1997). Catecholamine regulation of the prefrontal cortex. *Journal of psychopharmacology*, 11(2), 151-162.

Arnsten, A. F., & Wang, M. (2016). Targeting prefrontal cortical systems for drug development: Potential therapies for cognitive disorders. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 56, 339-360.

Ault, B., Evans, R.H., Francis, A.A., Oakes, D.J., Watkins, J.C., (1980). Selective depression of excitatory amino acid induced depolarizations by magnesium ions in isolated spinal cord preparations. *J. Physiol.* 307, 413e428.

Aultman, J. M., & Moghaddam, B. (2001). Distinct contributions of glutamate and dopamine receptors to temporal aspects of rodent working memory using a clinically relevant task. *Psychopharmacology*, 153(3), 353-364.

Ayala, J.E., Chen, Y., Banko, J.L., Sheffler, D.J., Williams, R., Telk, A.N., Watson, N.L., Xiang, Z., Zhang, Y., Jones, P.J., Lindsley, C.W., Olive, M.F., Conn, P.J., (2009). mGluR5 positive allosteric modulators facilitate both hippocampal LTP and LTD and enhance spatial learning. *Neuropsychopharmacology* 34, 2057e2071.

Balconi, M., & Canavesio, Y. (2014). The contribution of dorsolateral prefrontal cortex and temporoparietal areas in processing instrumental versus functional semantic violations in action representation. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 36(7), 701-15.

Balleine, B. W., & Dickinson, A. (1998). Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*, 37(4), 407-419.

Barker, G.R.I., & Warburton, E.C. (2008). NMDA Receptor Plasticity in the Perirhinal and Prefrontal Cortices Is Crucial for the Acquisition of Long-Term Object-in-Place Associative Memory. *The Journal of Neuroscience*, 28(11), 2837-2844.

Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of comparative and physiological psychology*, 93(1), 74-104.

Barroso-Chinea, P., Rico, A.J., Conte-Perales, L., Gomez-Bautista, V., Luquin, N., Sierra, S., et al. (2011). Glutamatergic and cholinergic pedunculopontine neurons innervate the thalamic parafascicular nucleus in rats: changes following experimental parkinsonism. *Brain Struct Funct*, 216, 319-330.

Bashir, Z.I., Tam, B., Collingridge, G.L., (1990). Activation of the glycine site in the NMDA receptor is necessary for the induction of LTP. *Neurosci. Lett.* 108, 261e266.

Baxter, M. G., Lanthorn, T. H., Frick, K. M., Golski, S., Wan, R. Q., & Olton, D. S. (1994). D-cycloserine, a novel cognitive enhancer, improves spatial memory in aged rats. *Neurobiology of aging*, 15(2), 207-13.

Beaulieu, C. (1993). Numerical data on neocortical neurons in adult rat, with special reference to the GABA population. *Brain research*, 609(1), 284-292.

Ben-Eliezer, D., & Yechian, E. (2016). Hypericum Perforatum as a cognitive enhancer in rodents: A meta-analysis. *Scientific Reports*, 6:35700.

Benveniste, M., Mayer, M.L., (1991). Kinetic analysis of antagonist action at N-methyl- o-aspartic acid receptors. Two binding sites each for glutamate and glycine. *Biophys. J.* 59, 560e573.

- Berendse, H. W., Galis-de Graaf, Y., & Groenewegen, H. J. (1992). Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 316(3), 314–47.
- Berger, A.J., Dieudonné, S., Ascher, P., (1998). Glycine uptake governs glycine site occupancy at NMDA receptors of excitatory synapses. *J. Neurophysiol.* 80, 3336e3340.
- Berger, B., Gaspar, P., & Verney, C. (1991). Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends in neurosciences*, 14(1), 21-27.
- Bergeron, R., Meyer, T.M., Coyle, J.T., Greene, R.W., (1998). Modulation of N-methyl-D-aspartate receptor function by glycine transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 95, 15730e15734.
- Bertotto, M. E., Bussolino, D. F., Molina, V. A., & Martijena, I. D. (2010). Increased voluntary ethanol consumption and c-Fos expression in selected brain areas induced by fear memory retrieval in ethanol withdrawn rats. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 20(8), 568–81.
- Birrell, J.M., & Brown, V.J. (2000). Medial Frontal Cortex Mediates Perceptual Attentional Set Shifting in the Rat. *Journal of Neuroscience*, 20(11), 4320-4324.
- Boix-Trelis, N., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., & Martí-Nicolovius, M. (2007). Muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat prelimbic cortex impairs the social transmission of food preference. *Neurobiology of learning and memory*, 87(4), 659-668.
- Botreau, F., Paolone, G., & Stewart, J. (2006). d-Cycloserine facilitates extinction of a cocaine-induced conditioned place preference. *Behavioural brain research*, 172(1), 173–178.
- Boulougouris, V., Dalley, J.W., & Robbins, T.W. (2007). Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. *Behavioural Brain Research*, 179(2), 219-228.
- Bouton, M. E., Vurbic, D., & Woods, A. M. (2008). D-cycloserine facilitates context-specific fear extinction learning. *Neurobiology of learning and memory*, 90(3), 504–510.
- Bortolotto, Z.A., Collett, V.J., Conquet, F., Jia, Z., van der Putten, H., Collingridge, G.L., (2005). The regulation of hippocampal LTP by the molecular switch, a form of metaplasticity, requires mGlu5 receptors. *Neuropharmacology* 49, 13e25.
- Bradfield, L. A., & Balleine, B. W. (2017). Thalamic control of dorsomedial striatum regulates internal state to guide goal-directed action selection. *Journal of Neuroscience*, 37(13), 3721-3733.
- Bradfield, L., Hart, G., & Balleine, B. (2013). The role of the anterior, mediodorsal, and parafascicular thalamus in instrumental conditioning. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 7(51).
- Bretin, S., Waller, D., Martinez Diaz Guerra, G., et al. (2015). Antidepressant-and anxiolytic-like properties of S47445, a novel positive allosteric modulator of AMPA type glutamate receptors. *Eur Neuropsychopharmacology*, 25(2), 248-249.
- Brito, G.N., Thomas, G.J., Davis, B.J., & Gingold, S.I. (1982). Prelimbic cortex, mediodorsal thalamus, septum, and delayed alteration in rats. *Experimental Brain Research*, 46(1), 52-58.



- Brito, G. N., Silva, S. P., & Brito, L. S. (1988). The cholinergic and dopaminergic systems of the prelimbic sector of frontal cortex and memory in the rat. *Brazilian journal of medical and biological research= Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas/Sociedade Brasileira de Biofisica...[et al.]*, 22(9), 1155-1158.
- Brito, G. N., & Brito, L. S. (1990). Septohippocampal system and the prelimbic sector of frontal cortex: a neuropsychological battery analysis in the rat. *Behavioural brain research*, 36(1-2), 127-46.
- Broersen, L. M., Heinsbroek, R. P., de Bruin, J. P., Joosten, R. N., van Hest, A., & Olivier, B. (1994). Effects of local application of dopaminergic drugs into the dorsal part of the medial prefrontal cortex of rats in a delayed matching to position task: comparison with local cholinergic blockade. *Brain research*, 645(1), 113-122.
- Broersen, L. M., Heinsbroek, R. P., de Bruin, J. P., Uylings, H. B., & Olivier, B. (1995). The role of the medial prefrontal cortex of rats in short-term memory functioning: further support for involvement of cholinergic, rather than dopaminergic mechanisms. *Brain research*, 674(2), 221-229.
- Broersen, L. M., & Uylings, H. B. M. (1999). Visual attention task performance in Wistar and Lister hooded rats: response inhibition deficits after medial prefrontal cortex lesions. *Neuroscience*, 94(1), 47-57.
- Brom, M., Laan, E., Everaerd, W., Spinhoven, P., Trimbos, B., & Both, S. (2015). D-Cycloserine reduces context specificity of sexual extinction learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 125, 202-210.
- Brown, H.D., Baker, P.M., & Ragozzino, M. E. (2010). The Parafascicular Thalamic Nucleus Concomitantly Influences Behavioral Flexibility and Dorsomedial Striatal Acetylcholine Output in Rats. *The Journal of Neuroscience*, 30(43):14390-14398.
- Bubser, M., & Schmidt, W.J. (1990). 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alteration tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. *Behavioural Brain Research*, 37(2), 157-168.
- Buchanan, R. W. (2013). Novel pharmacologic targets for the treatment of negative symptoms in schizophrenia. *The Journal of clinical psychiatry*, 74(5), e09.
- Burk, J. A., & Mair, R. G. (2001). Effects of intralaminar thalamic lesions on sensory attention and motor intention in the rat: a comparison with lesions involving frontal cortex and hippocampus. *Behavioural brain research*, 123(1), 49-63.
- Burket, J. A.; Benson, A. D.; Green, T. L.; Rook, J. M.; Lindsley, C. W.; Conn, P. J.; Deutsch, S. I. Effects of VU0410120, a novel GlyT1 inhibitor, on measures of sociability, cognition and stereotypic behaviors in a mouse model of autism. *Prog. Neuro- Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2015, 3, 10-17.
- Buschler, A., & Manahan-Vaughan, D. (2016). Metabotropic glutamate receptor, mGlu5, mediates enhancements of hippocampal long-term potentiation after environmental enrichment in young and old mice. *Neuropharmacology, online*.
- Bussey, T.J., Muir, J.L., Everitt, B.J., & Robbins, T. W. (1997). Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial prefrontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behavioral Neuroscience*, 111(5), 920-936.

- Bustos, S. G., Giachero, M., Maldonado, H., & Molina, V. A. (2010). Previous stress attenuates the susceptibility to Midazolam's disruptive effect on fear memory reconsolidation: influence of pre- reactivation D-cycloserine administration. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(5), 1097–1108.
- Carballo-Márquez, A., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Torras-Garcia, M., Boix-Trelis, N., & Martí-Nicolovius, M. (2007). Differential effects of muscarinic receptor blockade in prelimbic cortex on acquisition and memory formation of an odor-reward task. *Learning & memory*, 14(9), 616-624.
- Carballo-Marquez, A., Vale-Martinez, A., Guillazo-Blanch, G., & Marti-Nicolovius, M. (2009). Muscarinic receptor blockade in ventral hippocampus and prelimbic cortex impairs memory for socially transmitted food preference. *Hippocampus*, 19(5), 446.
- Carmack, S. A., Kim, J. S., Sage, J. R., Thomas, A. W., Skillicorn, K. N., & Anagnostaras, S. G. (2013). The competitive NMDA receptor antagonist CPP disrupts cocaine-induced conditioned place preference, but spares behavioral sensitization. *Behavioural brain research*, 239, 155–63.
- Capozzo, A., Florio, T., Cellini, R., Moriconi, U., & Scarnati, E. (2003). The pedunclopontine nucleus projection to the parafascicular nucleus of the thalamus: an electrophysiological investigation in the rat. *Journal of neural transmission*, 110(7), 733-747.
- Cappelletti, S., Piacentino, D., Sami, G., & Aromatorio, M. (2015). Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug? *Current Neuropharmacology*, 13(1), 71-88.
- Carli, M., Calcagno, E., Mainolfi, P., Mainini, E., & Invernizzi, R. W. (2011). Effects of aripiprazole, olanzapine, and haloperidol in a model of cognitive deficit of schizophrenia in rats: relationship with glutamate release in the medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, 214(3), 639-652.
- Carr, D. B., & Sesack, S. R. (1996). Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: synaptic targets and relation to dopamine terminals. *The Journal of comparative neurology*, 369(1), 1–15.
- Carstens, E., Leah, J., Lechner, J., & Zimmermann, M. (1990). Demonstration of extensive brainstem projections to medial and lateral thalamus and hypothalamus in the rat. *Neuroscience*, 35(3), 609-626.
- Cebrián, C., Parent, A., & Prensa, L. (2005). Patterns of axonal branching of neurons of the substantia nigra pars reticulata and pars lateralis in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 492(3), 349-369.
- Cesaro, P., Nguyen-Legros, J., Pollin, B., & Laplante, S. (1985). Single intralaminar thalamic neurons project to cerebral cortex, striatum and nucleus reticularis thalami. A retrograde anatomical tracing study in the rat. *Brain research*, 325(1), 29-37.
- Cestari, V., & Castellano, C. (1997). MK-801 potentiates morphine-induced impairment of memory consolidation in mice: involvement of dopaminergic mechanisms. *Psychopharmacology*, 133(1), 1–6.
- Chamberlian, S.E., Jane, D.E., & Jones, R.S. (2012). Pre-and post-synaptic functions of kainate receptors at glutamate and GABA synapses in the rat entorhinal cortex. *Hippocampus*, 22(3), 555-576.

- Chang, C., & Maren, S. (2011). Medial prefrontal cortex activation facilitates re-extinction of fear in rats. *Learning & memory*, 18(4), 221–5.
- Chao, N.; Li, S-T. Synaptic and extrasynaptic glutamate signaling in ischemic stroke. *Curr. Med. Chem.*, 2014, 21, 2043-2064.
- Chatterton, J.E., Awobuluyi, M., Premkumar, L.S., Takahashi, H., Talantova, M., Shin, Y., Cui, J., Tu, S., Sevarino, K.A., Nakanishi, N., Tong, G., Lipton, S.A., Zhang, D., (2002). Excitatory glycine receptors containing the NR3 family of NMDA receptor subunits. *Nature* 415, 793e798.
- Chen, L., Muhlhauser, M., Yang, C.R., (2003). Glycine transporter-1 blockade potentiates NMDA-mediated responses in rat prefrontal cortical neurons in vitro and in vivo. *J. Neurophysiol.* 89, 691e703.
- Chen, L., Miyamoto, Y., Furuya, K., Dai, X.N., Mori, N., Sokabe, M., (2006). Chronic DHEAS administration facilitates hippocampal long-term potentiation via an amplification of Src-dependent NMDA receptor signaling. *Neuropharmacology* 51, 659e670.
- Chen, L., Miyamoto, Y., Furuya, K., Mori, N., Sokabe, M., (2007). PREGS induces LTP in the hippocampal dentate gyrus of adult rats via the tyrosine phosphorylation of NR2B coupled to ERK/CREB signaling. *J. Neurophysiol.* 98 (3), 1538e1548.
- Chen, L., Cai, W., Chen, L., Zhou, R., Furuya, K., Sokabe, M., (2010). Modulatory metaplasticity induced by pregnenolone sulfate in the rat hippocampus: a leftward shift in LTP/LTD-frequency curve. *Hippocampus* 20, 499e512.
- Chen, G., Hu, T., Wang, Z., Li, Q., Li, J., Jia, Y., & Xu, W.H. (2013). Down-regulation of synaptotagmin 1 in cortex, hippocampus, and cerebellum after experimental subarachnoid hemorrhage. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 43(3), 250-256.
- Chen, G.H., Wang, Y.J., Qin, S., Yang, Q.G., Zhou, J.N., & Liu, R.Y. (2007). Age-related spatial cognitive impairment is correlated with increase of synaptotagmin 1 in dorsal hippocampus in SAMP8 mice. *Neurobiology of Aging*, 28(4), 611-618.
- Chen, M.; Lu, T. J.; Chen, X. J.; Zhou, Y.; Chen, Q.; Feng, X. Y.; Xu, L.; Duan, W. H.; Xiong, Z. Q. Differential roles of NMDA receptor subtypes in ischemic neuronal cell death and ischemic tolerance. *Stroke*, 2008, 39, 3042-3048.
- Chen, M., He, Z.G., Liu, B.W., Li, Z.X., Liu, S.G., & Xiang, H.B. (2016). Parafascicular nucleus-heart neural crosstalk: Implications for seizure-induced myocardial stunning. *Epilepsy & Behavior*, 63, 135-137.
- Cheriyian, J., Kaushik, M. K., Ferreira, A. N., & Sheets, P. L. (2016). Specific Targeting of the Basolateral Amygdala to Projectionally Defined Pyramidal Neurons in Prelimbic and Infralimbic Cortex. *eNeuro*, 3(2).
- Cherry KM, Lenze EJ, Lang CE (2014) Combining d-cycloserine with motor training does not result in improved general motor learning in neurologically intact people or in people with stroke. *J Neurophysiol* 111:2516–2524.
- Chiba, A. A., Bucci, D. J., Holland, P. C., & Gallagher, M. (1995). Basal forebrain cholinergic lesions disrupt increments but not decrements in conditioned stimulus processing. *Journal of Neuroscience*, 15(11), 7315-7322.
- Choi, D. C., Rothbaum, B. O., Gerardi, M., & Ressler, K. J. (2010). Pharmacological enhancement of behavioral therapy: focus on posttraumatic stress disorder. *Current topics in behavioral neurosciences*, 2, 279–99.

Choo, A. M.; Geddes-Klein, D. M.; Hockenberry, A.; Scarsella, D.; Mesfin, M. N.; Singh, P.; Patel, T. P.; Meaney, D. F. NR2A and NR2B subunits differentially mediate MAP kinase signaling and mitochondrial morphology following excitotoxic insult. *Neurochem. Int.*, 2012, 60, 506-516.

Chu, R., Shumsky, J., & Waterhouse, B.D. (2016) Differentiation of rodent behavioral phenotypes and methylphenidate action in sustained and flexible attention tasks. *Brain Research*, 1641, 306-319.

Chudasama, Y., Dalley, J. W., Nathwani, F., Bouger, P., Robbins, T. W., & Nathwani, F. (n.d.). Cholinergic modulation of visual attention and working memory: dissociable effects of basal forebrain 192-IgG-saporin lesions and intraprefrontal infusions of scopolamine. *Learning & memory*, 11(1), 78-86.

Chudasama, Y., & Muir, J.L. (1997). A behavioural analysis of the delayed non-matching to position task: the effects of scopolamine, lesions of the fornix and of the prelimbic region on mediating behaviours by rats. *Psychopharmacology*, 134(1), 73-82.

Chudasama, Y., Bussey, T.J., & Muir, J.L. (2001). Effects of selective thalamic and prelimbic cortex lesions on two types of visual discrimination and reversal learning. *European Journal of Neuroscience*, 14(6), 1009-1020.

Chudasama, Y., Passetti, F., Rhodes, S. E. V., Lopian, D., Desai, A., & Robbins, T. W. (2003). Dissociable aspects of performance on the 5-choice serial reaction time task following lesions of the dorsal anterior cingulate, infralimbic and orbitofrontal cortex in the rat: differential effects on selectivity, impulsivity and compulsivity. *Behavioural brain research*, 146(1), 105-119.

Chudasama, Y., Dalley, J. W., Nathwani, F., Bouger, P., & Robbins, T. W. (2004). Cholinergic modulation of visual attention and working memory: dissociable effects of basal forebrain 192-IgG-saporin lesions and intraprefrontal infusions of scopolamine. *Learning & Memory*, 11(1), 78-86.

Cioffi, C.L., & Guzzo, P.R. (2016). Inhibitors of Glycine Transporter-1: Potential Therapeutics for the Treatment of CNS Disorders. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(29), 3404-3437.

Clements, J.D., Westbrook, G.L., (1991). Activation kinetics reveal the number of glutamate and glycine binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor. *Neuron* 7, 605e613.

Coan, E.J., Irving, A.J., Collingridge, G.L., (1989). Low-frequency activation of the NMDA receptor system can prevent the induction of LTP. *Neurosci. Lett.* 105, 205e210.

Collingridge, G L, Kehl, S. J., & McLennan, H. (1983a). The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurones in vitro. *The Journal of physiology*, 334, 19-31.

Collingridge, G.L., Kehl, S.J., McLennan, H., (1983b). Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J. Physiol.* 334, 33e46.

Collingridge, G.L., Herron, C.E., Lester, R.A., (1988). Synaptic activation of N-methyl-D-aspartate receptors in the Schaffer collateral-commissural pathway of rat hippocampus. *J. Physiol.* 399, 283e300.

Collingridge, G.L. (1985). Long-term potentiation in the hippocampus e mechanisms of initiation and modulation by neurotransmitters. *Trends in Pharmacol. Sci.* 10, 407-411.

- Collingridge, Graham L, Volianskis, A., Bannister, N., France, G., Hanna, L., Mercier, M., Tidball, P., et al. (2013). The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement. *Neuropharmacology*, 64, 13–26.
- Collins, A.G., Ciullo, B., Frank, M.J., & Badre, D. (2017). Working memory load strengthens reward prediction errors. *Journal of Neuroscience*, pii: 2700-16.
- Colzato, L.S., Steenbergen, L., Sellaro, R., Stock, A.K., Arning, L., & Beste, C. (2016). Effects of L-Tyrosine on working memory and inhibitory control are determined by DRD2 genotypes: A randomized controlled trial. *Cortex*, 82, 217-224.
- Comans, P. E., & Snow, P. J. (1981). Ascending projections to nucleus parafascicularis of the cat. *Brain Research*, 230(1), 337-341.
- Condé, F., Maire-lepoivre, E., Audinat, E., & Crepel, F. (1995). Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *Journal of Comparative Neurology*, 352(4), 567-593.
- Copeland, C.S., Neale, S.A., & Salt, T.E. (2015). Neuronal activity patterns in the mediodorsal thalamus and related cognitive circuits are modulated by metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology*, 92, 16-24.
- Cornwall, J., & Phillipson, O. T. (1988). Afferent projections to the parafascicular thalamic nucleus of the rat, as shown by the retrograde transport of wheat germ agglutinin. *Brain research bulletin*, 20(2), 139-150.
- Croucher, M. J., Collins, J. F., & Meldrum, B. S. (1982). Anticonvulsant action of excitatory amino acid antagonists. *Science*, 216(4548), 899–901.
- Curlik, D. M., & Shors, T. J. (2011). Learning increases the survival of newborn neurons provided that learning is difficult to achieve and successful. *Journal of cognitive neuroscience*, 23(9), 2159–70.
- Dalley, J. W., McGaughy, J., O'Connell, M. T., Cardinal, R. N., Levita, L., & Robbins, T. W. (2001). Distinct changes in cortical acetylcholine and noradrenaline efflux during contingent and noncontingent performance of a visual attentional task. *Journal of Neuroscience*, 21(13), 4908-4914.
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004a). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 28(7), 771–84.
- Dalley, J. W., Theobald, D. E., Bouger, P., Chudasama, Y., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004b). Cortical cholinergic function and deficits in visual attentional performance in rats following 192 IgG-saporin-induced lesions of the medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 14(8), 922-932.
- D'Amore, V., Santolini, I., Celli, R., Lionetto, L., DeFusco, A., Simmaco, M., van Rijn, C.M., Vieira, E., Stauffer, S.R., Conn, P.J., Bosco, P., Nicoletti, F., van Lujtelaar, G., & Ngomba, R.T. (2014). Head-to-head comparison of mGlu1 and mGlu5 receptor activation in chronic treatment of absence epilepsy in WAG/Rij rats. *Neuropharmacology*, 85, 91-103.
- D'Amore, V., von Randow, C., Nicoletti, F., Ngomba, R.T., & van Lujtelaar, G. (2015). Anti-absence activity of mGlu1 and mGlu5 receptor enhancers and their interaction with a GABA reuptake inhibitor: Effect of local infusions in the somatosensory cortex and thalamus. *Epilepsia*, 56(7), 1141-51.

Danysz W, Parsons CG (1998) Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications. *Pharmacol Rev* 50:597–664.

Danysz, W., & Parsons, C. G. (2003). The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *International journal of geriatric psychiatry*, 18(Suppl 1), S23–32.

Darrah, J.M., Stefani, M.R., Moghaddam, B., (2008). Interaction of N-methyl-D- aspartate and group 5 metabotropic glutamate receptors on behavioral flexi- bility using a novel operant set-shift paradigm. *Behav. Pharmacol.* 19, 225e234.

Datiche, F., & Cattarelli, M. (1996). Reciprocal and topographic connections between the piriform and prefrontal cortices in the rat: a tracing study using the B subunit of the cholera toxin. *Brain research bulletin*, 41(6), 391–8.

Datusalia, A.K., & Sharma, S.S. (2016). NF-kB Inhibition Resolves Cognitive Deficits in Experimental Type 2 Diabetes Mellitus through CREB and Glutamate/GABA Neurotransmitters Pathway. *Current Neurovascular Research*, 13(1), 22-32.

Davenport, R. a, & Houpt, T. a. (2009). D-cycloserine enhances short-delay, but not long-delay, conditioned taste aversion learning in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 91(4), 596–603.

Davies, C.H., Collingridge, G.L., (1993). The physiological regulation of synaptic inhi- bition by GABAB autoreceptors in rat hippocampus. *J. Physiol.* 472, 245e265.

Davies, C.H., Collingridge, G.L., 1996. Regulation of EPSPs by the synaptic activation of GABAB autoreceptors in rat hippocampus. *J. Physiol.* 496 (2), 451e470.

Davies, C.H., Davies, S.N., Collingridge, G.L., (1990). Paired-pulse depression of monosynaptic GABA-mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippo- campus. *J. Physiol.* 424, 513e531.

Davies, S. N., & Lodge, D. (1987). Evidence for involvement of N-methylaspartate receptors in “wind-up” of class 2 neurones in the dorsal horn of the rat. *Brain research*, 424(2), 402–6.

Davies, C.H., Pozza, M.F., Collingridge, G.L.,(1993). CGP 55845A: a potent antagonist of GABAB receptors in the CA1 region of rat hippocampus. *Neuropharmacology* 32, 1071e1073.

De Bruin, J.P.C., Sánchez-Santed, F., Heinsbroek, R.P.W., Donker, A., & Postmes, P. (1994). A behavioural analysis of rats with damage to the medial prefrontal cortex using the morris water maze: evidence for behavioural flexibility, but not for impaired spatial navigation. *Brain Research*, 652(2), 323-333.

DeFelipe, J. (2002). Cortical interneurons: from Cajal to 2001. *Progress in brain research*, 136, 215–38.

Delatour, B., & Gisquet-Verrier, P. (1996). Prelimbic cortex specific lesions disrupt delayed-variable response tasks in the rat. *Behavioral neuroscience*, 110(6), 1282–98.

Delatour, B., & Gisquet-Verrier, P. (1999). Lesions of the prelimbic-infralimbic cortices in rats do not disrupt response selection processes but induce delay-dependent deficits: Evidence for a role in working memory? *Behavioral Neuroscience*, 113(5), 941-955.

Delatour, B., & Gisquet-Verrier, P. (2000). Functional role of rat prelimbic-infralimbic cortices in spatial memory: evidence for their involvement in attention and behavioural flexibility. *Behavioural brain research*, 109(1), 113-128.

- Deschenes, M., Bourassa, J., & Parent, A. (1996). Striatal and cortical projections of single neurons from the central lateral thalamic nucleus in the rat. *Neuroscience*, *72*(3), 679-687.
- DeVito, L. M., Lykken, C., Kanter, B. R., & Eichenbaum, H. (2010). Prefrontal cortex: role in acquisition of overlapping associations and transitive inference. *Learning & memory*, *17*(3), 161-167.
- DeVito, L.M., Balu, D.T., Kanter, B.R., Lykken, C., Basu, A.C., Coyle, J.T., Eichenbaum, H., (2011). Serine racemase deletion disrupts memory for order and alters cortical dendritic morphology. *Genes Brain Behav.* *10*, 210e222.
- Dhawan, J., Benveniste, H., Luo, Z., Nawrocky, M., Smith, S. D., & Biegon, A. (2011). A new look at glutamate and ischemia: NMDA agonist improves long-term functional outcome in a rat model of stroke. *Future neurology*, *6*(6), 823-834.
- Dias, R., Robbins, T. W., & Roberts, A. C. (1996). Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts. *Nature*, *380*(6569), 69.
- Dias, R., & Aggleton, J. P. (2000). Effects of selective excitotoxic prefrontal lesions on acquisition of nonmatching-and matching-to-place in the T-maze in the rat: Differential involvement of the prelimbic-infralimbic and anterior cingulate cortices in providing behavioural flexibility. *European Journal of Neuroscience*, *12*(12), 4457-4466.
- Ding, D. C., Gabbott, P. L., & Totterdell, S. (2001). 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*(1), 81-89.
- Ding, J. B., Guzman, J. N., Peterson, J. D., Goldberg, J. A., & Surmeier, D. J. (2010). Thalamic gating of corticostriatal signaling by cholinergic interneurons. *Neuron*, *67*(2), 294-307.
- Dingess, P. M., Darling, R.A., Dolence, E. K., Culver, B. W., & Brown, T. E. (2016) Exposure to a diet high in fat attenuates dendritic spine density in the medial prefrontal cortex. *Brain Structure and Function*, 1-9.
- Dingledine, R., Hynes, M.A., King, G.L., (1986). Involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in epileptiform bursting in the rat hippocampal slice. *J. Physiol.* *380*, 175e189.
- Doig, N. M., Magill, P. J., Apicella, P., Bolam, J. P., & Sharott, A. (2014). Cortical and thalamic excitation mediate the multiphasic responses of striatal cholinergic interneurons to motivationally salient stimuli. *Journal of Neuroscience*, *34*(8), 3101-3117.
- Donoghue, J. P., & Herkenham, M. (1986). Neostriatal projections from individual cortical fields conform to histochemically distinct striatal compartments in the rat. *Brain research*, *365*(2), 397-403.
- Duffy, S., Labrie, V., Roder, J.C., (2008). D-serine augments NMDA-NR2B receptor-dependent hippocampal long-term depression and spatial reversal learning. *Neuropsychopharmacology* *33*, 1004e1018.
- Eckert, U., Metzger, C.D., Buchmann, J.E., Kaufmann, J., Osoba, A., Li, M., Safron, A., Liao, W., Steiner, J., Bogerts, B., & Walter, M. (2012). Preferential networks of the mediodorsal nucleus and centromedian-parafascicular complex of the thalamus—a DTI tractography study. *Human Brain Mapping*, *33*(11), 2627-37.
- Eddy, M.C., Todd, T.P., Bouton, M.E., & Green, J.T. (2016). Medial prefrontal cortex involvement in the expression of extinction and ABA renewal of instrumental behavior for a food reinforcer. *Neurobiology of Learning and Memory*, *128*, 33-39.

Ellard, J.M., Madin, A., Phillips, O., Hopkin, M., Henderson, S., Birch, L., O'Connor, D., Arai, T., Takase, K., Morgan, L., Reynolds, D., Talma, S., Howley, E., Powney, B., Payne, A.H., Hall, A., Gartlon, J.E., Dawson, L.A., Castro, L., & Atkinson, P.J. (2015). Identification and optimization of a series of tetrahydrobenzotriazoles as a metabotropic glutamate receptor 5-selective positive allosteric modulators that improve performance in a preclinical model of cognition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(24), 5792-5796.

Fakouhi TD, Jhee SS, Sramek JJ, Benes C, Schwartz P, Hantsburger G, Herting R, Swabb EA, Cutler NR (1995) Evaluation of cyclo- serine in the treatment of Alzheimer's disease. *J Geriatr Psy- chiatry Neurol* 8:226-230.

Fallon, S., Shearman, E., Sershen, H., & Lajtha, A. (2007). The effects of glutamate and GABA receptor antagonist on nicotine-induced neurotransmitter changes in cognitive areas. *Neurochemical Research*, 32(4), 535-553.

Feldman DE. The spike-timing dependence of plasticity. *Neuron* 2012; 75: 556-71.

Feng, M.H., He, Z.G., Liu, B.W., Li, Z.X., Wu, D.Z., Liu, S.G., & Xiang, H.B. (2016). Parafascicular nucleus circuits: Implications for the alteration of gastrointestinal functions during epileptogenesis. *Epilepsy & Behavior*, 64(A), 295-298.

Ferino, F., Thierry, A. M., & Glowinski, J. (1987). Anatomical and electrophysiological evidence for a direct projection from Ammon's horn to the medial prefrontal cortex in the rat. *Experimental Brain Research*, 65(2), 421-426.

Fernández-Cabrera, M.R., Selvas, A., Miguéns, M., Higuera-Matas, A., Vale-Martínez, A., Ambrosio, E., Martí-Nicolovius, M., & Guillazo-Blanch, G. (2017). Parafascicular thalamic nucleus deep brain stimulation decreases NMDA receptor GluN1 subunit gene expression in the prefrontal cortex. *Neuroscience*, 348, 73-82.

Ferraris, D.V., Tsukamoto, T., (2011). Recent advances in the discovery of D-amino acid oxidase inhibitors and their therapeutic utility in schizophrenia. *Curr. Pharm. Des.* 17, 103e111.

Ferreira, R., Brandão M. L., & Nobre, M. J. (2016). 5-HT1A receptors of the prelimbic cortex mediate the hormonal impact on learned fear expression in high-anxious female rats. *Hormones and Behavior*, 84, 84-96.

Ferron, A., Thierry, A. M., Le Douarin, C., & Glowinski, J. (1984). Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity or excitatory response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain research*, 302(2), 257-265.

Finkelstein, D. I., Reeves, A. K., & Horne, M. K. (1996). An electron microscopic tracer study of the projections from entopeduncular nucleus to the ventrolateral nucleus of the rat. *Neuroscience letters*, 211(1), 33-36.

Flavell, C. R., Barber, D. J., & Lee, J. L. C. (2011). Behavioural memory reconsolidation of food and fear memories. *Nature communications*, 2, 504.

Flood, J. F., Morley, J. E., & Lanthorn, T. H. (1992). Effect on memory processing by D-cycloserine, an agonist of the NMDA/glycine receptor. *European journal of pharmacology*, 221(2-3), 249-54.

Flood, J.F., Morley, J.E., Roberts, E., (1992). Memory-enhancing effects in male mice of pregnenolone and steroids metabolically derived from it. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 1567e1571.



Flood, J.F., Morley, J.E., Roberts, E., (1995). Pregnenolone sulfate enhances post- training memory processes when injected in very low doses into limbic system structures: the amygdala is by far the most sensitive. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 10806e10810.

Floyd, N. S., Price, J. L., Ferry, A. T., Keay, K. A., & Bandler, R. (2000). Orbitomedial prefrontal cortical projections to distinct longitudinal columns of the periaqueductal gray in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 422(4), 556-578.

Floyd, N. S., Price, J. L., Ferry, A. T., Keay, K. A., & Bandler, R. (2001). Orbitomedial prefrontal cortical projections to hypothalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 432(3), 307-328.

Fossat, P., Turpin, F.R., Sacchi, S., Dulong, J., Shi, T., Rivet, J.M., Sweedler, J.V., Pollegioni, L., Millan, M.J., Oliet, S.H., Mothet, J.P., (2012). Glial D-serine gates NMDA receptors at excitatory synapses in prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 22, 595e606.

Frankiewicz, T., Parsons, C.G., (1999). Memantine restores long term potentiation impaired by tonic N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor activation following reduction of Mg2p in hippocampal slices. *Neuropharmacology* 38 (9), 1253e1259.

Fritts, M.E., Asbury, E.T., Horton, J.E., & Isaac, W.L. (1998). Medial prefrontal lesion deficits involving or sparing the prelimbic area in the rat. *Physiology & Behavior*, 64(3), 373-380.

Fu, J., Xing, X., Han, M., Xu, N., Piao, C., Zhang, Y., & Zheng, X. (2016). Region-specific roles of the prelimbic cortex, the dorsal CA1, the ventral DG and ventral CA1 of the hippocampus in the fear return evoked by a sub-conditioning procedure in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 128, 80-91.

Funahashi, S. (2017). Working Memory in the Prefrontal Cortex. *Brain Sciences*, 7(5), 49.

Fuster, J. M. (1997). Network memory. *Trends in neurosciences*, 20(10), 451-459.

Fuster, J. M. (2000). Memory networks in the prefrontal cortex. *Progress in brain research*, 122, 309-16.

Gabbott, P., Headlam, A., & Busby, S. (2002). Morphological evidence that CA1 hippocampal afferents monosynaptically innervate PV-containing neurons and NADPH-diaphorase reactive cells in the medial prefrontal cortex (Areas 25/32) of the rat. *Brain research*, 946(2), 314-22.

Gabbott, P. L. A., Warner, T. A., Jays, P. R. L., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of comparative neurology*, 492(2), 145-77.

Gabriele, A., & Packard, M. G. (2007). D-Cycloserine enhances memory consolidation of hippocampus- dependent latent extinction. *Learning & memory*, 14(7), 468-471.

Galvan, A., & Smith, Y. (2011). The primate thalamostriatal systems: anatomical organization, functional roles and possible involvement in Parkinson's disease. *Basal Ganglia*, 1(4), 179-189.

Gao, H.R., Shi, T.F., Yang, C.X., Zhang, G.W., Zhang, D., Jiao, R.S., et al. (2012) Dopamine involved in the nociceptive modulation in the parafascicular nucleus of morphine-dependent rat. *Neurochem. Res.*, 37, 428-435.

Gao, X.-M., Elmer, G. I., Adams-Huet, B., & Tamminga, C. A. (2009). Social memory in mice: disruption with an NMDA antagonist and attenuation with antipsychotic drugs. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 92(2), 236-42.

Garcia, R., Chang, C-h., Maren, S. (2006). Electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex do not interfere with long-term memory of extinction of conditioned fear. *Learning & Memory*, 13, 14-17.

Gastambide, F., Cotel, M.C., Gilmour, G., O'Neill, M.J., Robbins, T.W., Tricklebank, M.D., (2012). Selective remediation of reversal learning deficits in the neurodevelopmental MAM model of schizophrenia by a novel mGlu5 positive allosteric modulator. *Neuropsychopharmacology* 37, 1057e1066.

Gastambide, F., Gilmour, G., Robbins, T.W., & Tricklebank, M.D. (2013). The mGlu5 positive allosteric modulator LSN2463359 differentially modulates motor, instrumental and cognitive effects of NMDA receptor antagonist in the rat. *Neuropharmacology*, 64, 240-247.

Gaykema, R. P., Luiten, P. G., Nyakas, C., & Traber, J. (1990). Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *The Journal of comparative neurology*, 293(1), 103-24.

Gaykema, R., Van Weeghel, R., Hersh, L. B., & Luiten, P. G. (1991). Prefrontal cortical projections to the cholinergic neurons in the basal forebrain. *Journal of Comparative Neurology*, 303(4), 563-583.

Gelfin E, Kaufman Y, Korn-Lubetzki I, et al. D-serine adjuvant treatment alleviates behavioural and motor symptoms in Parkinson's disease. *Int J Neuropsychopharmacol* 2012; 15: 543-9.

Gewirtz, J.C., Falls, W.A., & Davis, M. (1997). Normal conditioning inhibition and extinction of freezing and fear-potentiated startle following electrolytic lesions of medial prefrontal cortex in rats. *Behavioral Neuroscience*, 111(4), 712-726.

Giatti, S., Melcangi, RC., & Pesaresi, M. (2016). The other side of progestins: effects in the brain. *Journal of Molecular Endocrinology*, 57(2), 109-126.

Gill, T. M., Sarter, M., & Givens, B. (2000). Sustained visual attention performance-associated prefrontal neuronal activity: evidence for cholinergic modulation. *Journal of Neuroscience*, 20(12), 4745-4757.

Gilmartin, M.R., & Helmstetter, F.J. (2010). Trace and contextual fear conditioning require neural activity and NMDA receptor-dependent transmission in the medial prefrontal cortex. *Learning & Memory*, 17, 289-296.

Gisquet-Verrier, P., Winocur, G., & Delatour, B. (2000). Functional dissociation between dorsal and ventral regions of the medial prefrontal cortex in rats. *Psychobiology*, 28(2), 248-260.

Gisquet-Verrier, P., & Delatour, B. (2006). The role of the rat prelimbic/infralimbic cortex in working memory: Not involved in the short-term maintenance but in monitoring and processing functions. *Neuroscience*, 141(2), 585-596.

Glimcher, P. W., & Lau, B. (2005). Rethinking the thalamus. *Nature neuroscience*, 8(8), 983-984.

Goetzl, E.J., Kapogiannis, D., Schwarz, J.B., Lobach, I.V., Goetzl, L., Abner, E.L., Jicha, G.A., Karydas, A.M., Boxer, A., & Miller, B.L. (2016). Decreased synaptic proteins in neuronal exosomes of frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*, 30(12), 4141-4148.

C Goff, D. (2017). D-cycloserine in schizophrenia: new strategies for improving clinical outcomes by enhancing plasticity. *Current neuropharmacology*, 15(1), 21-34.

Golden, G. J., & Houpt, T. a. (2007). NMDA receptor in conditioned flavor-taste preference learning: blockade by MK-801 and enhancement by D-cycloserine. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 86(3), 587–96.

Goldman-Rakic, P. S. (1996). Regional and cellular fractionation of working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(24), 13473-13480.

Goodman LS, Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG (2001) Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 10th Edition. New York: McGraw-Hill.

Grañon, S., Vidal, C., Thinus-Blanc, C., Changeux, J. P., & Poucet, B. (1994). Working memory, response selection, and effortful processing in rats with medial prefrontal lesions. *Behavioral neuroscience*, 108(5), 883.

Grañon, S., & Poucet, B. (1995). Medial prefrontal lesions in the rat and spatial navigation: Evidence for impaired planning. *Behavioral Neuroscience*, 109(3), 474-484.

Grañon, S., Poucet, B., Thinus-Blanc, C., Changeux, J.P., & Vidal, C. (1995). Nicotinic and muscarinic receptors in the rat prefrontal cortex: Differential roles in working memory, response selection and effortful processing. *Psychopharmacology*, 119(2), 139-144.

Grañon, S., Hardouin, J., Courtièr, A., & Poucet, B. (1998). Evidence for the involvement of the rat prefrontal cortex in sustained attention. *The Quarterly journal of experimental psychology. B, Comparative and physiological psychology*, 51(3), 219–33.

Grañon, S., Passetti, F., Thomas, K. L., Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2000). Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *Journal of neuroscience*, 20(3), 1208-1215.

Groblewski, P. A., Lattal, K. M., & Cunningham, C. L. (2009). Effects of D-cycloserine on extinction and reconditioning of ethanol-seeking behavior in mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 33(5), 772–782.

Groenewegen, H. J. (1988). Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, 24(2), 379-431.

Groenewegen, H. J., Berendse, H. W., & Haber, S. N. (1993). Organization of the output of the ventral striatopallidal system in the rat: ventral pallidal efferents. *Neuroscience*, 57(1), 113-142.

Groenewegen, H. J., & Berendse, H. W. (1994). The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends in neurosciences*, 17(2), 52-57.

Groenewegen, H. J., Wright, C. I., Beijer, A. V., & Voorn, P. (1999). Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. *Annals of the New York academy of sciences*, 877(1), 49-63.

Groenewegen, H. J., & Uylings, H. B. (2000). The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Progress in brain research*, 126, 3-28.

Grunberg, B. S., & Krauthamer, G. M. (1992). Sensory responses of intralaminar thalamic neurons activated by the superior colliculus. *Experimental brain research*, 88(3), 541-550.

Grunberg, B. S., Krein, H., & Krauthamer, G. M. (1992). Somatosensory input and thalamic projection of pedunculopontine tegmental neurons. *Neuroreport*, 3(8), 673-675.

Guastella, A. J., Dadds, M. R., Lovibond, P. F., Mitchell, P., & Richardson, R. (2007a). A randomized controlled trial of the effect of D-cycloserine on exposure therapy for spider fear. *Journal of psychiatric research*, 41(6), 466–71.

Guastella, A. J., Lovibond, P. F., Dadds, M. R., Mitchell, P., & Richardson, R. (2007b). A randomized controlled trial of the effect of D-cycloserine on extinction and fear conditioning in humans. *Behaviour research and therapy*, 45(4), 663–72.

Guastella A.J., Richardson R., Lovibond P.F., Rapee R.M., Gaston J.E. Mitchell P., Dadds M.R. (2008). A randomized controlled trial of D-cycloserine enhancement of exposure therapy for social anxiety disorder. *Biological Psychiatry*, 63(6): 544-9.

Gummadavelli, A., Motelow, J.E., Smith, N., Zhan, Q., Schiff, N.D., & Blumenfeld, H. (2015). Thalamic stimulation to improve level of consciousness after seizures: evaluation of electrophysiology and behavior. *Epilepsia*, 56(1), 114-124.

Gupta, S. C., Hillman, B. G., Prakash, A., Ugale, R. R., Stairs, D. J., & Dravid, S. M. (2013). Effect of D- cycloserine in conjunction with fear extinction training on extracellular signal-regulated kinase activation in the medial prefrontal cortex and amygdala in rat. *The European journal of neuroscience*, (November 2011), 1–12.

Gyertyán, I. (2017). Cognitive ‘Omics’: Pattern-Based Validation of Potential Drug Targets. *Trends in Pharmacological Sciences*, 38(2), 113-126.

Hahn, B., Shoaib, M., & Stolerman, I. P. (2003). Involvement of the prefrontal cortex but not the dorsal hippocampus in the attention-enhancing effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology*, 168(3), 271-279.

Haider, A., Inam, W., Khan, S.A., Hifza, Mahmood, W., & Abbas, G. (2016).  $\beta$  -glucan attenuated scopolamine induced cognitive impairment via hippocampal acetylcholinesterase inhibition in rats. *Brain Research*, 1644, 141-148.

Halladay, L.R., & Blair, H.T. (2017). Prefrontal infralimbic cortex mediates competition between excitation and inhibition of body movements during pavlovian fear conditioning. *Journal of Neuroscience Research*, 95(3), 853-862.

Harati, H., Barbelivien, A., Cosquer, B., Majchrzak, M., & Cassel, J. C. (2008). Selective cholinergic lesions in the rat nucleus basalis magnocellularis with limited damage in the medial septum specifically alter attention performance in the five-choice serial reaction time task. *Neuroscience*, 153(1), 72-83.

Hardingham, G.E., & Do, K.Q. (2016). Linking early-life NMDAR hypofunction and oxidative stress in schizophrenia pathogenesis. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(2), 125-134.

Hart, G., & Balleine, B.W. (2016). Consolidation of Goal-Directed Action Depends on MAPK/ERK Signaling in Rodent in Rodent Prelimbic Cortex. *Journal of Neuroscience*, 36(47), 11974-11986.

Harte, S.E., Spuz, C.A., & Borszcz, G.S. (2011). Functional interaction between medial thalamus and rostral anterior cingulate cortex in the suppression of pain affect. *Neuroscience*, 172, 460-473.

Hayton, S. J., Lovett-Barron, M., Dumont, E. C., & Olmstead, M. C. (2010). Target-specific encoding of response inhibition: increased contribution of AMPA to NMDA receptors at excitatory synapses in the prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 30(34), 11493-11500.

- Hazrati, L. N., & Parent, A. (1991). Contralateral pallidothalamic and pallidotegmental projections in primates: an anterograde and retrograde labeling study. *Brain research*, 567(2), 212-223.
- Hazrati, L. N., & Parent, A. (1993). Striatal and subthalamic afferents to the primate pallidum: interactions between two opposite chemospecific neuronal systems. *Progress in brain research*, 99, 89-104.
- Hazrati, L. N., Pinault, D., & Parent, A. (1995). The thalamic reticular nucleus does not send commissural projection to the contralateral parafascicular nucleus in the rat. *Brain research*, 679(1), 123-134.
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27(6), 555-79.
- Heilbronner, U., Hinrichs, H., Heinze, H.J., & Zaehle, T. (2015). Caffeine differentially alters cortical hemodynamic activity during working memory: a near infrared spectroscopy study. *BMC Research Notes*, 8, 520.
- Henderson, G., Johnson, J. W., & Ascher, P. (1990). Competitive antagonists and partial agonists at the glycine modulatory site of the mouse N-methyl-D-aspartate receptor. *The Journal of physiology*, 430, 189-212.
- Henneberger, C., Papouin, T., Oliet, S.H., Rusakov, D.A., (2010). Long-term potentiation depends on release of D-serine from astrocytes. *Nature* 463, 232-236.
- Heresco-Levy, U., Javitt, D.C., Ermilov, M., Mordel, C., Horowitz, A., Kelly, D., (1996). Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of glycine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* 169, 610e617.
- Heresco-Levy, U.; Shoham, S.; Javitt, D. C. Glycine site agonists of the N-methyl-D-aspartate receptor and Parkinson's disease: a hypothesis. *Movement Disorders*, 2013, 28, 419-424.
- Hernández, S., Farré, J.M., & Deus, J. (2012). Aplicación de D-Cicloserina en los trastornos de ansiedad. *C. Med. Psicosom*, 101.
- Herron, C. E., Williamson, R., & Collingridge, G. L. (1985). A selective N-methyl-D-aspartate antagonist depresses epileptiform activity in rat hippocampal slices. *Neuroscience letters*, 61(3), 255-60.
- Hetem, L. A. B., Danion, J. M., Diemunsch, P., & Brandt, C. (2000). Effect of a subanesthetic dose of ketamine on memory and conscious awareness in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 152(3), 283-288.
- Hikichi, H., Murai, T., Okuda, S., Maehara, S., Satow, A., Ise, S., Nishimo, M., Suzuki, G., Takehana, H., Hata, M., & Ohta, H. (2010). Effects of a novel metabotropic glutamate receptor 7 negative allosteric modulator, 6-(4-methoxyphenyl)-5-methyl-3-pyridin-4-ylisoxazonolo [4, 5-c]pyridine-4(5H)-one(MMPIP), on the central nervous system in rodents. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 106-114.
- Hikichi, H., Kaku, A., Karasawa, J., & Chaki, S. (2013). Stimulation of metabotropic glutamate (mGlu)2 receptor and blockade of mGlu1 receptor improve social memory impairment elicited by MK-801 in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 122(1), 10-16.
- Ho, Y.-J., Ho, S.-C., Pawlak, C. R., & Yeh, K.-Y. (2011). Effects of D-cycloserine on MPTP-induced behavioral and neurological changes: potential for treatment of Parkinson's disease dementia. *Behavioural brain research*, 219(2), 280-90.

- Hood, W. F., Compton, R. P., & Monahan, J. B. (1989). D-cycloserine: a ligand for the N-methyl-D-aspartate coupled glycine receptor has partial agonist characteristics. *Neuroscience letters*, 98(1), 91–5.
- Hofmann S.G., Carpenter, J.K., Otto, M.W., Rosenfield, D., Smits, J.A., & Pollack, M.H. (2015). Dose timing of D-cycloserine to augment cognitive behavioral therapy for social anxiety: Study design and rationale. *Contemporary Clinical Trials*, 43, 223-230.
- Hofmann, S. G., Hüweler, R., MacKillop, J., & Kantak, K. M. (2012). Effects of D-cycloserine on craving to alcohol cues in problem drinkers: preliminary findings. *The American journal of drug and alcohol abuse*, 38(1), 101–7.
- Hofmann, S. G., Meuret, A. E., Smits, J. A. J., Simon, N. M., Pollack, M. H., Eisenmenger, K., Otto, M. W. (2006). Augmentation of exposure therapy with D-cycloserine for social anxiety disorder. *Archives of general psychiatry*, 63(3), 298–304.
- Hoffman-LaRoche. Clinicaltrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01674361> (Accessed May 30, 2015).
- Hofmann, S. G., Smits, J. a J., Rosenfield, D., Simon, N., Otto, M. W., Meuret, A. E., Marques, L., et al. (2013). d-Cycloserine as an Augmentation Strategy With Cognitive-Behavioral Therapy for Social Anxiety Disorder. *The American journal of psychiatry*, 170(7), 751–8.
- Hofmann S.G., Otto M.W., Pollack M.H.; Jasper A.S. (2015). d-Cycloserine augmentation of cognitive behavioral therapy for anxiety disorders: an update. *Current Psychiatry Reports*, 17: 532.
- Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2010). Group 5 metabotropic glutamate receptors: role in modulating cortical activity and relevance to cognition. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 33-39.
- Horio, M., Fujita, Y., & Hashimoto, K. (2103). Therapeutic effects of metabotropic glutamate receptor 5 positive allosteric modulator CDPPB on phencyclidine-induced cognitive deficits in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 27(5), 483-488.
- Hughes, R. N. (2004). Responsiveness to brightness change in male and female rats following treatment with the partial agonist of the N-methyl-D-aspartate receptor, D-cycloserine. *Behavioural brain research*, 152(2), 199–207.
- Hullinger, R., O’Riordan, K., & Burger, C. (2015). Environmental enrichment improves learning and memory and long-term potentiation in young adult rats through a mechanism requiring mGluR5 signaling and sustained activation of p70s6k. *Neurobiology of Learning and Memory*, 125, 126-134.
- Hulme, O. J., Whiteley, L., & Shipp, S. (2010). Spatially distributed encoding of covert attentional shifts in human thalamus. *Journal of neurophysiology*, 104(6), 3644-3656.
- Hurley, K. M., Herbert, H., Moga, M. M., & Saper, C. B. (1991). Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 308(2), 249-276.
- Hsu, D. T., & Price, J. L. (2007). Midline and intralaminar thalamic connections with the orbital and medial prefrontal networks in macaque monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, 504(2), 89-111.
- Isaacson, J.S., Solis, J.M., Nicoll, R.A., (1993). Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus. *Neuron* 10, 165e175.

Izaki, Y., Hori, K., & Nomura, M. (2001). Elevation of prefrontal acetylcholine is related to the extinction of learned behavior in rats. *Neuroscience Letters*, 306(1-2), 33-36.

Izquierdo, L.A., Barros, D.M., Costa da Costa, J., Furini, C., Zinn, C., Cammarota, M., Bevilacqua, L.R., & Izquierdo, I. (2007). A link between role of two prefrontal areas in immediate memory and in long-term memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88(2), 160-166.

Jacobson, S., Butters, N., & Tovsky, N. J. (1978). Afferent and efferent subcortical projections of behaviorally defined sectors of prefrontal granular cortex. *Brain research*, 159(2), 279-296.

Jang, S.H., Lim, H.W. & Yeo, S.S. (2014). The neural connectivity of the intralaminar thalamic nuclei in the human brain: a diffusion tensor tractography study. *Neuroscience letters*, 579, 140-144.

Jansen, M., & Dannhardt, G. (2003). Antagonists and agonists at the glycine site of the NMDA receptor for therapeutic interventions. *European journal of medicinal chemistry*, 38(7-8), 661-70.

Jay, T. M., & Witter, M. P. (1991). Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology*, 313(4), 574-586.

Jean-Richard-Dit-Bressel, P., & McNally, G.P. (2016). Lateral, not medial, prefrontal cortex contributes to punishment and aversive instrumental learning. *Learning and Memory*, 23(11), 607-617.

Jentsch, J. D., Elsworth, J. D., Redmond, D. E., & Roth, R. H. (1997). Phencyclidine increases forebrain monoamine metabolism in rats and monkeys: modulation by the isomers of HA966. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(5), 1769-75.

Jentsch, J. D., Wise, A., Katz, Z., & Roth, R. H. (1998). Alpha-noradrenergic receptor modulation of the phencyclidine- and delta9-tetrahydrocannabinol-induced increases in dopamine utilization in rat prefrontal cortex. *Synapse*, 28(1), 21-6.

Jha, S.K., Jha, N.K., Kumar, D., Sharma, R., Shrivastava, A., Ambasta, R.K., & Kumar, P. (2016). Stress-Induced Synaptic Dysfunction and Neurotransmitter Release in Alzheimer's Disease: Can Neurotransmitters and Neuromodulators be Potential Therapeutic Targets? *Journal of Alzheimer's Disease*, Preprint, 1-23.

Jinks, A. L., & McGregor, I. S. (1997). Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain research*, 772(1-2), 181-90.

Jo, J., Son, G. H., Winters, B. L., Kim, M. J., Whitcomb, D. J., Dickinson, B. A., Lee, Y.-B., et al. (2010). Muscarinic receptors induce LTD of NMDAR EPSCs via a mechanism involving hippocalcin, AP2 and PSD-95. *Nature neuroscience*, 13(10), 1216-24.

Joel, D., Weiner, I., & Feldon, J. (1997a). Electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex in rats disrupt performance on an analog of the Wisconsin Card Sorting Test, but do not disrupt latent inhibition: implications for animal models of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, 85(2), 187-201.

Joel, D., Tarrasch, R., Feldon, J., & Weiner, I. (1997b). Effects of electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex or its subfields on 4-arm baited, 8-arm radial maze, two-way active avoidance and conditioned fear tasks in the rat. *Brain Research*, 765(1), 37-50.

Johanson, F., Carlsson, H.A., Rasmussen, A., Yeo, C.H., & Hesslow, G. (2015). Activation of a Temporal Memory in Purkinje Cells by the mGluR7 Receptor. *Cell Reports*, 13(9), 1741-6.

Johnson, J.W., Ascher, P., (1987). Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature* 325, 529e531.

Johnson, K.A., Mateo, Y., & Lovinger, D.M. (2017). Metabotropic glutamate receptor 2 inhibits thalamically-driven glutamate and dopamine release in the dorsal striatum. *Neuropharmacology*, 117, 114-123.

Jones R, Laake K, Oeksengaard AR (2002) D-cycloserine for Alzheimer's disease. The Cochrane database of systematic reviews: CD003153.

Judo, C., Matsumoto, M., Yamazaki, D., Hiraide, S., Yanagawa, Y., Kimura, S., Shimamura, K., et al. (2010). Early stress exposure impairs synaptic potentiation in the rat medial prefrontal cortex underlying contextual fear extinction. *Neuroscience*, 169(4), 1705-14.

Kalinichev, M.; Starr, K. R.; Teague, S.; Bradford, A. M.; Porter, R. A.; Herdon, H. J. Glycine transporter 1 (GlyT1) inhibitors exhibit anticonvulsant properties in the rat maximal electroshock threshold (MEST) test. *Brain Res.*, 2010, 1331, 105-113.

Kalisch, R., Holt, B., Petrovic, P., De Martino, B., Klöppel, S., Büchel, C., & Dolan, R. J. (2009). The NMDA agonist D-cycloserine facilitates fear memory consolidation in humans. *Cerebral cortex*, 19(1), 187-96.

Kang, J., Shin, J.W., Kim, Y.R., Swanberg, K.M., Kim, Y., Bae, J.R., Kim, Y.K., Lee, J., Kim, S.Y., Sohn, N.W., & Maeng, S. (2017). Nobiletin improves emotional and novelty recognition memory but not spatial referential memory. *Journal of Natural Medicines*, 71(1), 181-189.

Karavanova I, Vasudevan K, Cheng J, Buonanno A (2007) Novel regional and developmental NMDA receptor expression patterns uncovered in NR2C subunit-beta-galactosidase knock-in mice. *Mol Cell Neurosci* 34:468-480.

Kart-Teke, E., De Souza Silva, M. a, Huston, J. P., & Dere, E. (2006). Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences. *Neurobiology of learning and memory*, 85(2), 173-82.

Kato, S., Kuramochi, M., Kobayashi, K., Fukabori, R., Okada, K., Uchigashima, M., et al. (2011). Selective neural pathway targeting reveals key roles of thalamostriatal projection in the control of visual discrimination. *J. Neurosci.* 31, 17169-17179. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4005-11.2011

Kawabe, K, Yoshihara, T., Ichitani, Y., & Iwasaki, T. (1998). Intrahippocampal D-cycloserine improves MK- 801-induced memory deficits: radial-arm maze performance in rats. *Brain research*, 814(1-2), 226-230.

Kawabe, Kouichi, Iwasaki, T., & Ichitani, Y. (2007). Repeated treatment with N-methyl-d-aspartate antagonists in neonatal, but not adult, rats causes long-term deficits of radial-arm maze learning. *Brain research*, 1169, 77-86.

Keistler, C., Barker, J.M., & Taylor, J.R. (2015). Infralimbic prefrontal cortex interacts with nucleus accumbens shell to unmask expression of outcome-selective Pavlovian-to-instrumental transfer. *Learning & Memory*, 22(10), 509-13.

Kelley, J. B., Anderson, K. L., & Itzhak, Y. (2007). Long-term memory of cocaine-associated context: disruption and reinstatement. *Neuroreport*, 18(8), 777-780.



Kennedy, A. P., Gross, R. E., Whitfield, N., Drexler, K. P. G., & Kilts, C. D. (2012). A controlled trial of the adjunct use of D-cycloserine to facilitate cognitive behavioral therapy outcomes in a cocaine-dependent population. *Addictive behaviors*, 37(8), 900–7.

Kesner, R. P. (2000). Subregional analysis of mnemonic functions of the prefrontal cortex in the rat. *Psychobiology*, 28(2), 219-228.

Khatri, D.K., & Juvekar, A.R. (2016). Neuroprotective effect of curcumin as evinced by abrogation of rotenone-induced motor deficits, oxidative and mitochondrial dysfunctions in mouse model of Parkinson's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 150-151, 39-47.

Killcross, S., & Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral cortex*, 13(4), 400–8.

Kim, C.H., Hvoslef-Eide, M., Nilsson, S.R., Johson, M.R., Herbert, B.R., Robbins, T.W., Saksida, L.M., Bussey, T.J., & Mar, A.C. (2015). The continuous performance test (rCPT) for mice: a novel operant touchscreen test of attentional function. *Psychopharmacology*, 232, 2947-3966.

Kim, H.Y., Kim, H.V., Lee, D.K., Yang, S.H., & Kim, Y. (2016). Rapid and sustained cognitive recovery in APP/PS1 transgenic mice by co-administration of EPPS and donepezil. *Scientific Reports*, 6, 34165.

Kim, J.P., Min, H.K., Knight, E.J., Duffy, P.S., Abulseoud, O.A., Marsh, M.P., Kelsey, K., Blaha, C.D., Bennet, K.E., Frye, M.A., & Lee, K.H. (2013). Centromedian-parafascicular deep brain stimulation induces differential functional inhibition of the motor, associative, and limbic circuits in large animals. *Biological Psychiatry*, 74(12), 917-26.

King, M.V., Kurian, N., Qin, S., Papadopoulou, N., Westerink, B.H., Cremers, T.I., Epping-Jordan, M.P., Le Poul, E., Ray, D.E., Fone, K.C., Kendall, D.A., Marsden, C.A., & Sharp, T.V. (2014). Lentiviral delivery of a vesicular glutamate transporter 1 (VGLUT1)-targeting short hairpin RNA vector into the mouse hippocampus impairs cognition. *Neuropsychopharmacology*, 39(2), 464-476.

Kinomura, S., Larsson, J., Gulyas, B., & Roland, P. E. (1996). Activation by attention of the human reticular formation and thalamic intralaminar nuclei. *Science*, 271(5248), 512.

Kiselycznyk, C., Jury, H.J., Halladay, L.R., Nakazawa, K., Mishina, M., Sprengel, R., Grant, S.G., Svenningsson, P., & Holmes, A. (2015). NMDA receptor subunits and associated signaling molecules mediating antidepressant-related effects of NMDA-GluN2B antagonism. *Behavioral Brain Research*, 287, 89-95.

Kita, T., Shigematsu, N., & Kita, H. (2016). Intralaminar and tectal projections to the subthalamus in the rat. *The European Journal of Neuroscience*, 44(11), 2899-2908.

Kloda, A., Clements, J.D., Lewis, R.J., Adams, D.J., (2004). Adenosine triphosphate acts as both a competitive antagonist and a positive allosteric modulator at recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol. Pharmacol.* 65, 1386e1396.

Klumpers, F., Denys, D., Kenemans, J. L., Grillon, C., Van der Aart, J., & Baas, J. M. P. (2012). Testing the effects of  $\Delta^9$ -THC and D-cycloserine on extinction of conditioned fear in humans. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 26(4), 471–8.

Knafo, S., Venero, C., Sánchez-Puelles, C., Pereda-Peréz, I., Franco, A., Sandi, C., Suárez, L. M., et al. (2012). Facilitation of AMPA receptor synaptic delivery as a molecular mechanism for cognitive enhancement. *PLoS biology*, 10(2).

- Knöchel, C., Voss, M., Grüter, F., Alves, G.S., Matura, S., Sepanski, B., Stäblein, M., Wenzler, S., Prvulovic, D., & Carvalho, A.H. (2015). Omega 3 Fatty Acids: Novel Neurotherapeutic Targets for Cognitive Dysfunction in Mood Disorders and Schizophrenia? *Current Neuropharmacology*, 13(5), 663-680.
- Kobayashi, S., & Nakamura, Y. (2003). Synaptic organization of the rat parafascicular nucleus, with special reference to its afferents from the superior colliculus and the pedunculopontine tegmental nucleus. *Brain research*, 980(1), 80-91.
- Kolb, B. (1990). Prefrontal cortex. Tees, Richard C. (Ed). (1990). *The cerebral cortex of the rat*, (pp. 437-458). Cambridge, MA, US: The MIT Press, xii, 645 pp.
- Kolmac, C. I., & Mitrofanis, J. (1997). Organisation of the reticular thalamic projection to the intralaminar and midline nuclei in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 377(2), 165-178.
- Kozak, R., Bruno, J. P., & Sarter, M. (2006). Augmented prefrontal acetylcholine release during challenged attentional performance. *Cerebral cortex*, 16(1), 9-17.
- Kranjac, D., Koster, K. M., Kahn, M. S., Eimerbrink, M. J., Womble, B. M., Cooper, B. G., Chumley, M. J., et al. (2013). Peripheral administration of d-cycloserine rescues memory consolidation following bacterial endotoxin exposure. *Behavioural brain research*, 243C, 38-43.
- Kraus, N.M., Prast, H., & Philippu, A. (2014). Influence of parafascicular thalamic input on neuronal activity within the nucleus accumbens is mediated by nitric oxide – an in vivo study. *Life sciences*, 102(1), 49-54.
- Krauthamer, G. M., Krol, J. G., & Grunberg, B. S. (1992). Effect of superior colliculus lesions on sensory unit responses in the intralaminar thalamus of the rat. *Brain research*, 576(2), 277-286.
- Krettek, J. E., & Price, J. L. (1977). The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 171(2), 157-191.
- Kroker, K. S., Rast, G., & Rosenbrock, H. (2011). Differential effect of the mGlu5 receptor positive allosteric modulator ADX-47273 on early and late hippocampal LTP. *Neuropharmacology*, 61(4), 707-14.
- Krout, K. E., & Loewy, A. D. (2000). Parabrachial nucleus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 428(3), 475-494.
- Krout, K. E., Belzer, R. E., & Loewy, A. D. (2002). Brainstem projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 448(1), 53-101.
- Krystal, J. H., Karper, L. P., Seibyl, J. P., Freeman, G. K., Delaney, R., Bremner, J. D., ... & Charney, D. S. (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans: psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Archives of general psychiatry*, 51(3), 199-214.
- Kublik, E., & Sara, S. J. (2002). Activity in medial frontal cortex during odour discrimination learning in the rat: Neuronal response to experimental cortex. In *FENS Abstract* (Vol. 1, p. A040).
- Kuramoto, E., Pan, S., Furuta, T., Tanaka Y. R., Iwai, H., Yamanaka, A., Ohno, S., Kaneko, T., Goto, T., & Hioki, H. (2016). Individual mediodorsal thalamic neurons project to multiple areas of the rat prefrontal cortex: A single neuron-tracing study using virus vectors. *The Journal of Comparative Neurology*.

Kuriyama, K., Honma, M., Shimazaki, M., Horie, M., Yoshiike, T., Koyama, S., & Kim, Y. (2011). An N- methyl-D-aspartate receptor agonist facilitates sleep-independent synaptic plasticity associated with working memory capacity enhancement. *Scientific reports*, 1, 127.

Kuryatov, A., Laube, B., Betz, H., Kuhse, J., (1994). Mutational analysis of the glycine-binding site of the NMDA receptor: structural similarity with bacterial amino acid-binding proteins. *Neuron* 12, 1291e1300.

Kushner, MG., Kim SW., Donahue C., Thuras P., Adson D., Kotlyar M., McCabe J., Peterson J. & Foa EB. (2007). D-cycloserine augmented exposure therapy for obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry*, 62(8): 835-8.

Kwok, T., Lee, J., Ma, R.C., Wong, S.Y., Kung, K, Lam, A., Ho, C.S., Lee, V., Harrison, J., & Lam, L. (2016). A randomized placebo controlled trial of vitamin B<sub>12</sub> supplementation to prevent cognitive decline in older diabetic people with borderline low serum vitamin B<sub>12</sub>. *Clinical Nutrition*.

Lacey, C.J., Bolam, J.P., & Magill, P.J. (2007). Novel and Distinct Operational Principle of Intralaminar Thalamic Neurons and Their Striatal Projections. *Journal of Neuroscience*, 27(16), 4374-4384.

Lambe, E. K., Goldman-Rakic, P. S., & Aghajanian, G. K. (2000). Serotonin induces EPSCs preferentially in layer V pyramidal neurons of the frontal cortex in the rat. *Cerebral Cortex*, 10(10), 974-980.

Lane, H.Y., Chang, Y.C., Liu, Y.C., Chiu, C.C., Tsai, G.E., (2005). Sarcosine or D-serine add-on treatment for acute exacerbation of schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 1196e1204.

Land, C., & Riccio, D. C. (1999). d-Cycloserine: effects on long-term retention of a conditioned response and on memory for contextual attributes. *Neurobiology of learning and memory*, 72(3), 158-68.

Lanté, F., Cavalier, M., Cohen-Solal, C., Guiramand, J., Vignes, M., (2006). Developmental switch from LTD to LTP in low frequency-induced plasticity. *Hippocampus* 16, 981e989.

Långsjö, J. W., Lehtimäki, K., Ruohonen, J., Sajanti, A., Sandell, S., Heikkilä, H. T., ... & Herrala, L. (2016). Critical neural targets for (the level of) human consciousness: arousal arrest and unconsciousness after sumatriptan administration. *Brain injury*, 30(13-14), 1731-1736.

Langton, J. M., & Richardson, R. (2008). D-cycloserine facilitates extinction the first time but not the second time: an examination of the role of NMDA across the course of repeated extinction sessions. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(13), 3096-3102.

Langton, J. M., & Richardson, R. (2010). The effect of D-cycloserine on immediate vs. delayed extinction of learned fear. *Learning & memory*, 17(11), 547-51.

Lapiz, M. D. S., & Morilak, D. A. (2006). Noradrenergic modulation of cognitive function in rat medial prefrontal cortex as measured by attentional set shifting capability. *Neuroscience*, 137(3), 1039-1049.

Laroche, S., Davis, S., & Jay, T. M. (2000). Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus*, 10(4), 438-46.

Larsen, J. K., & Divac, I. (1978). Selective ablations within the prefrontal cortex of the rat and performance of delayed alternation. *Physiological Psychology*, 6(1), 15-17.

Laurent, V., & Westbrook, F. (2008). Distinct contributions of basolateral amygdala and the medial prefrontal cortex to learning and relearning extinction of context conditioned fear. *Learning & Memory*, *15*, 657-666.

Le Bail, M., Martineau, M., Sacchi, S., Yatsenko, N., Radzishevsky, I., Conrod, S., Ait Ouares, K., Wolosker, H., Pollegioni, L., Billard, J.M., & Mothet, J.P. (2015). Identity of NMDA receptor coagonist is synapse specific and developmentally regulated in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(2), 204-213.

Ledgerwood, L., Richardson, R., & Cranney, J. (2003). Effects of D-cycloserine on extinction of conditioned freezing. *Behavioral neuroscience*, *117*(2), 341-349.

Ledgerwood, L., Richardson, R., & Cranney, J. (2005). D-cycloserine facilitates extinction of learned fear: effects on reacquisition and generalized extinction. *Biological psychiatry*, *57*(8), 841-847.

Lee, J. L. C., Milton, A. L., & Everitt, B. J. (2006). Reconsolidation and extinction of conditioned fear: inhibition and potentiation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *26*(39), 10051-10056.

Lee, J. L. C., & Everitt, B. J. (2008). Appetitive memory reconsolidation depends upon NMDA receptor-mediated neurotransmission. *Neurobiology of learning and memory*, *90*(1), 147-54.

Lee, J. L. C., Gardner, R. J., Butler, V. J., & Everitt, B. J. (2009). D-cycloserine potentiates the reconsolidation of cocaine-associated memories. *Learning & Memory*, *16*(1), 82-85.

Lee, J. L. C., Milton, A. L., & Everitt, B. J. (2006). Reconsolidation and extinction of conditioned fear: inhibition and potentiation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *26*(39), 10051-10056.

Lehner, M., Wisłowska-Stanek, A., Taracha, E., Maciejak, P., Szyndler, J., Skórzewska, A., Turzyńska, D., et al. (2010). The effects of midazolam and D-cycloserine on the release of glutamate and GABA in the basolateral amygdala of low and high anxiety rats during extinction trial of a conditioned fear test. *Neurobiology of learning and memory*, *94*(4), 468-80.

Lehtimäki, K., Långsjö, J.W., Ollikainen, J., Heinonen, H., Möttönen, T., Tähtinen, T., Haapasalo, J., Tenhunen, J., Katisko, J., Öhman, J., & Peltola, J. (2017). Successful management of super-refractory status epilepticus with thalamic deep brain. *Annals of Neurology*, *81*(1), 142-146.

Lelong, V., Dauphin, F., & Boulouard, M. (2001). RS 67333 and D-cycloserine accelerate learning acquisition in the rat. *Neuropharmacology*, *41*(4), 517-22.

Lesage, A., & Steckler, T. (2010). Metabotropic glutamate mGlu1 receptor stimulation and blockade: therapeutic opportunities in psychiatric illness. *European Journal of Pharmacology*, *639*(1-3), 2-16.

Leslie, J. C., Norwood, K., Kennedy, P. J., Begley, M., & Shaw, D. (2012). Facilitation of extinction of operant behaviour in C57Bl/6 mice by chlordiazepoxide and D: -cycloserine. *Psychopharmacology*, *223*(2), 223-35.

Levinson, CA., Rodebaugh, TL., Fewell, L., Kass, AE., Riley, EN., Stark, L., McCallum, K., & Lenze, EJ. (2015). D-cycloserine facilitation of exposure therapy improves weight regain in patients with anorexia nervosa: a pilot randomized controlled trial. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *76*(6), 787-93.

Li, J.T., Zhao, Y.Y., Wang, H.L., Wang, X.D., Su, Y.A., & Si, T.M. (2015). Long-term effects of neonatal exposure to MK-801 on recognition memory and excitatory-inhibitory balance in rat hippocampus. *Neuroscience*, 308, 134-143.

Li, L., & Shao, J. (1998). Restricted lesions to ventral prefrontal subareas block reversal learning but no visual discrimination learning in rats. *Physiology & Behavior*, 65(2), 371-379.

Li, W., Yan, H., Yu, Y., Cheong, Y., Ren, G., & Yang, Z. (2016). Etidronate rescues cognitive deficits through improving synaptic transmission and suppressing apoptosis in 2-vessel occlusion model rats. *Journal of Neurochemistry*.

Li, W., Yu, J., Liu, Y., Huang, X., Abumaria, N., Zhu, Y., Huang, X., Xiong, W., Ren, C., Liu, X.G., Chui, D., & Liu, G. (2014). Elevation of brain magnesium prevents synaptic loss and reverses cognitive deficits in Alzheimer's disease mouse model. *Molecular Brain*, 7:65.

Liang, K. C., Hon, W., Tyan, Y. M., & Liao, W. L. (1994). Involvement of hippocampal NMDA and AMPA receptors in acquisition, formation and retrieval of spatial memory in the Morris water maze. *The Chinese journal of physiology*, 37(4), 201-12.

Lin, H.-C. C., Mao, S.-C. C., Su, C.-L. L., & Gean, P.-W. W. (2010). Alterations of excitatory transmission in the lateral amygdala during expression and extinction of fear memory. *The international journal of neuropsychopharmacology (CINP)*, 13(3), 335-45.

Lin, C.H., Huang, Y.J., Lin, C.J., Lane, H.Y., & Tsai, G.E. (2014). NMDA Neurotransmission Dysfunction in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Current Pharmacological Design*, 20, 5169-5179.

Lindsey, C.W., & Stauffer, S.R. (2013). Metabotropic glutamate receptor 5-positive allosteric modulators for the treatment of schizophrenia (2004-2012). *Pharmaceutical Patent Analyst*, 2(1), 93-108.

Lins, B.R., & Howland, J.G. (2016). Effects of the metabotropic glutamate receptor 5 positive allosteric modulator CDPBP on rats tested with paired associated learning task in touchscreen-equipped operant conditioning chambers. *Behavioural Brain Research*, 301, 152-160.

Liu, F., Grauer, S., Kelley, C., Navarra, R., Graf, R., Zhang, G., Atkinson, P.J., Popiolek, M., Wantuch, C., Khawaja, X., Smith, D., Olsen, M., Kouranova, E., Lai, M., Pruthi, F., Pulicicchio, C., Day, M., Gilbert, A., Pausch, M.H., Brandon, N.J., Beyer, C.E., Comery, T.A., Logue, S., Rosenzweig-Lipson, S., Marquis, K.L., (2008). ADX47273 [S-(4-fluoro-phenyl)-{3-[3-(4-fluoro-phenyl)-[1,2,4]-oxadiazol-5-yl]-piperidin-1-yl}-methanone]: a novel metabotropic glutamate receptor 5- selective positive allosteric modulator with preclinical antipsychotic-like and procognitive activities. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 327, 827e839.

Liu, G., Wainger, J.G., Lu, Z.L., Xue, F., & Sadeghpour, S. (2016). Efficacy and Safety of MMFS-01, a Synapse Density Enhancer, for Treating Cognitive Impairment in older adults: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Alzheimer's Disease*, 49(4), 971-990.

Liu, L.; Wong, T. P.; Pozza, M. F.; Lingenhoel, K.; Wang, Y.; Sheng, M.; Auberson, Y. P.; Wang, Y. T. Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science*, 2004, 304, 1021-1024.

Litz, B. T., Salters-Pedneault, K., Steenkamp, M. M., Hermos, J. a, Bryant, R. a, Otto, M. W., & Hofmann, S. G. (2012). A randomized placebo-controlled trial of D-cycloserine and exposure therapy for posttraumatic stress disorder. *Journal of psychiatric research*, 46(9), 1184-90.

- Lu, G.-Y. Y., Wu, N., Zhang, Z.-L. L., Ai, J., & Li, J. (2011). Effects of D-cycloserine on extinction and reinstatement of morphine-induced conditioned place preference. *Neuroscience letters*, 503(3), 196–9.
- Macchi, G., & Bentivoglio, M. (1986). The thalamic intralaminar nuclei and the cerebral cortex. In *Sensory-Motor Areas and Aspects of Cortical Connectivity*(pp. 355-401). Springer US.
- Madry, C., Mesic, I., Betz, H., Laube, B., (2007). The N-terminal domains of both NR1 and NR2 subunits determine allosteric Zn<sup>2+</sup> inhibition and glycine affinity of N- methyl-D- aspartate receptors. *Mol. Pharmacol.* 72, 1535e1544.
- Mair, R. G., Onos, K. D., & Hembrook, J. R. (2011). Cognitive activation by central thalamic stimulation: the yerkes-dodson law revisited. *Dose-response*, 9(3), dose-response.
- Mair, R.G., Miller, R.L., Wormwood, B.A., Francoeur, M.J., Onos, K.D., & Gibson, B.M. (2015). The neurobiology of thalamic amnesia: Contributions of medial thalamus and prefrontal cortex to delayed conditional discrimination. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 54, 161-174.
- Malabade, R., & Taranalli, A.D. (2015). Calotropis procera: A potential cognition enhancer in scopolamine and electroconvulsive shock-induced amnesia in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(4), 419-424.
- Malhotra, A. K., Pinals, D. A., Weingartner, H., Sirocco, K., Missar, C. D., Pickar, D., & Breier, A. (1996). NMDA receptor function and human cognition: the effects of ketamine in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 14(5), 301-307.
- Manahan-Vaughan, D., Braunewell, K.H., (2005). The metabotropic glutamate receptor, mGluR5, is a key determinant of good and bad spatial learning performance and hippocampal synaptic plasticity. *Cereb. Cortex* 15, 1703e1713.
- Mancia, M., & Marini, G. (1995). Orienting-like reaction after ibotenic acid injections into the thalamic centre median nucleus in the cat. *Archives italiennes de biologie*, 134(1), 65-80.
- Mansouri, M.T., Farbood, Y., Naghizadeh, B., Shabani, S., Mirshekar, M.A., & Sarkaki, A. (2016). Beneficial effects of ellagic acid against animal models of scopolamine – and diazepam – induced cognitive impairments. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 1947-1953.
- Mao, S.-C. C., Hsiao, Y.-H. H., & Gean, P.-W. W. (2006). Extinction training in conjunction with a partial agonist of the glycine site on the NMDA receptor erases memory trace. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(35), 8892–8899.
- Marek, G.J. (2010). Metabotropic glutamate 2/3 (mGlu2/3) receptors, schizophrenia and cognition. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 81-90.
- Marini, G., & Tredici, G. (1995). Parafascicular nucleus-raphé projections and termination patterns in the rat. *Brain research*, 690(2), 177-184.
- Marini, G., Tredici, G., & Mancia, M. (1998). Abolition of the neocortically monitored theta rhythm after ibotenic acid lesion of the parafascicular nucleus in behaving rats. *Sleep Research Online*, 1(4), 128-131.
- Marquis, J.P., Killcross, S., & Haddon, J.E. (2007). Inactivation of the prelimbic, but not infralimbic, prefrontal cortex impairs the contextual control of response conflict in rats. *European Journal of Neuroscience*, 25(2), 559-566.

- Martina, M., Gorfinkel, Y., Halman, S., Lowe, J.A., Periyalwar, P., Schmidt, C.J., Bergeron, R., (2004). Glycine transporter type 1 blockade changes NMDA receptor-mediated responses and LTP in hippocampal CA1 pyramidal cells by altering extracellular glycine levels. *J. Physiol.* 557, 489e500.
- Maruki, K., Izaki, Y., Akema, T., & Nomura, M. (2003). Effects of acetylcholine antagonist injection into the prefrontal cortex on the progress of lever-press extinction in rats. *Neuroscience Letters*, 351(2), 95-98.
- Marx, C.E., Bradford, D.W., Hamer, R.M., Naylor, J.C., Allen, T.B., Lieberman, J.A., Strauss, J.L., Kilts, J.D., (2011). Pregnenolone as a novel therapeutic candidate in schizophrenia: emerging preclinical and clinical evidence. *Neuroscience* 191, 78e90.
- Matsumoto, N., Minamimoto, T., Graybiel, A. M., & Kimura, M. (2001). Neurons in the thalamic CM-Pf complex supply striatal neurons with information about behaviorally significant sensory events. *Journal of Neurophysiology*, 85(2), 960-976.
- Matsumoto, Y., Yoshida, M., Watanabe, S., & Yamamoto, T. (2001). Involvement of cholinergic and glutamatergic functions in working memory impairment induced by interleukin-1beta in rats. *European journal of pharmacology*, 430(2-3), 283-8.
- Matsuoka, N., & Aigner, T. G. (1996). D-cycloserine, a partial agonist at the glycine site coupled to N-methyl- D-aspartate receptors, improves visual recognition memory in rhesus monkeys. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 278(2), 891-7.
- Maurice, T., Hiramatsu, M., Itoh, J., Kameyama, T., Hasegawa, T., & Nabeshima, T. (1994). Behavioral evidence for a modulating role of sigma ligands in memory processes. I. Attenuation of dizocilpine (MK- 801)-induced amnesia. *Brain research*, 647(1), 44-56.
- McCallum, J., Kim, J. H., & Richardson, R. (2010). Impaired extinction retention in adolescent rats: effects of D-cycloserine. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(10), 2134-42.
- McClure, R., Ong, H., Janve, V., Barton, S., Zhu, M., Li, B., Dawes, M., Jerome, W.G., Anderson, A., Massion, P., Gore, J.C., & Pham, W. (2017). Aerosol Delivery of Curcumin Reduced Amyloid-  $\beta$  Deposition and Improved Cognitive Performance in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 55(2), 797-811.
- McCormick, D. A., Connors, B. W., Lighthall, J. W., & Prince, D. A. (1985). Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *Journal of neurophysiology*, 54(4), 782-806.
- McDonald, A J. (1987). Organization of amygdaloid projections to the mediodorsal thalamus and prefrontal cortex: a fluorescence retrograde transport study in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 262(1), 46-58.
- McDonald, A J. (1991). Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience*, 44(1), 1-14.
- McDonald, A. J., Mascagni, F., & Guo, L. (1996). Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience*, 71(1), 55-75.
- McDonald, Alexander J. (1998). Cortical Pathways to the mammalian amygdala. *Progress in neurobiology*, 55(3), 257-332.

- McDonald, R. J., Hong, N. S., Craig, L. a, Holahan, M. R., Louis, M., & Muller, R. U. (2005). NMDA-receptor blockade by CPP impairs post-training consolidation of a rapidly acquired spatial representation in rat hippocampus. *The European journal of neuroscience*, 22(5), 1201–13.
- McGaughy, J., Kaiser, T., & Sarter, M. (1996). Behavioral vigilance following infusions of 192 IgG-saporin into the basal forebrain: selectivity of the behavioral impairment and relation to cortical AChE-positive fiber density. *Behavioral neuroscience*, 110(2), 247.
- McGaughy, J., Dalley, J. W., Morrison, C. H., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2002). Selective behavioral and neurochemical effects of cholinergic lesions produced by intrabasal infusions of 192 IgG-saporin on attentional performance in a five-choice serial reaction time task. *Journal of Neuroscience*, 22(5), 1905-1913.
- Mehdipour, S., Alaei, H. A., & Pilehvariyan, A. A. (2015). The effect of medial prefrontal cortex electrical stimulation on passive avoidance memory in healthy and addict rats. *Advanced Biomedical Research*, 4, 254.
- Ménard, C., Quirion, R., Vigneault, E., Bouchard, S., Ferland, G., El Mestikawy, S., & Gaudreau, P. (2015). Glutamate presynaptic vesicular transporter and postsynaptic receptor levels correlate with spatial memory status in aging rat models. *Neurobiology of Aging*, 36(3), 1471-82.
- Méndez, M., Méndez-López, M., López, L., Begega, A., Aller, M. Á., Arias, J., & Arias, J. L. (2010). Reversal learning impairment and alterations in the prefrontal cortex and the hippocampus in a model of portosystemic hepatic encephalopathy. *Acta Neurologica Belgica*, 110(3), 246.
- Mendiola-Precoma, J., Berumen, L.C., Padilla, K., & Garcia-Alcocer, G. (2016). Therapies for prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*.
- Mickley, G.A., Kenmuir, C.L., Yocom, A.M., Wellman, J.A., & Biada, J.M. (2005). A role for prefrontal cortex in the extinction of a conditioned taste aversion. *Brain Research*, 1051(1-2), 176-182.
- Mickley, G. A., Remus, J. L., Ramos, L., Wilson, G. N., Biesan, O. R., & Ketchesin, K. D. (2012). Acute, but not chronic, exposure to d-cycloserine facilitates extinction and modulates spontaneous recovery of a conditioned taste aversion. *Physiology & behavior*, 105(2), 417–427.
- Migues, P.V., Ko, S.H., Wang, Y.T., & Hardt, O. (2016) Blocking Synaptic Removal of GluA2-Containing AMPA Receptors Prevents the Natural Forgetting of Long-Term Memories. *The Journal of Neuroscience*, 36(12), 3481-3494.
- Milad, M. R., Rauch, S. L., Pitman, R. K., & Quirk, G. J. (2006). Fear extinction in rats: implications for human brain imaging and anxiety disorders. *Biological psychology*, 73(1), 61-71.
- Millan, M.J., Rivet, J.M., & Gobert, A. (2016). The frontal cortex as a network hub controlling mood and cognition: Probing its neurochemical substrates for improved therapy of psychiatric and neurological disorders. *Journal of Psychopharmacology*, 30(11), 1099-1128.
- Millicamps, M., Centeno, M. V., Berra, H. H., Rudick, C. N., Lavarello, S., Tkatch, T., & Apkarian, A. V. (2007). D-cycloserine reduces neuropathic pain behavior through limbic NMDA-mediated circuitry. *Pain*, 132(1), 108-123.



- Minamimoto, T., Hori, Y., Yamanaka, K., & Kimura, M. (2014). Neural signal for counteracting pre-action bias in the centromedian thalamic nucleus. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8, 3.
- Minamimoto, T., Hori, Y., & Kimura, M. (2005). Complementary process to response bias in the centromedian nucleus of the thalamus. *Science*, 308(5729), 1798-1801.
- Minamimoto, T., & Kimura, M. (2002). Participation of the thalamic CM-Pf complex in attentional orienting. *Journal of Neurophysiology*, 87(6), 3090-3101.
- Minshawi, NF., Wink, LK., Shaffer, R., Plawecki, MH., Posey, DJ., Liu, H., Hurwitz, S., McDougle, CJ., Swiezy, NB., & Erickson CA. (2016). A randomized placebo-controlled trial of d-cycloserine for the enhancement of social skills training in autism spectrum disorders. *Molecular Autism*, 7:2.
- Miyamoto E. Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 433-42.
- Mizoguchi, K., Shoji, H., Tanaka, Y., Maruyama, W., & Tabira, T. (2009). Age-related spatial working memory impairment is caused by prefrontal cortical dopaminergic dysfunction in rats. *Neuroscience*, 162(4), 1192-1201.
- Modi, M. E., & Young, L. J. (2011a). D-cycloserine facilitates socially reinforced learning in an animal model relevant to autism spectrum disorders. *Biological psychiatry*, 70(3), 298-304.
- Moench, K. M., Maroun, M., Kavushansky, A., & Wellman, C. (2016). Alterations in neuronal morphology in infralimbic cortex predict resistance to fear extinction following acute stress. *Neurobiology of Stress*, 3, 23-33.
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., & Daly, D. (1997). Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(8), 2921-7.
- Moghaddam, B., & Jackson, M. E. (2003). Glutamatergic animal models of schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, 131-7.
- Molander, A.; Soderpalm, B. Accumbal strychnine-sensitive glycine receptors: an access point for ethanol to the brain reward system. *Alcohol Clin. Ex. Res.*, 2005, 29, 27-37.
- Molander, A.; Lof, E.; Stomberg, R.; Ericson, M.; Soderpalm, B. Involvement of accumbal glycine receptors in the regulation of voluntary ethanol intake in the rat. *Alcohol Clin. Ex. Res.*, 2005, 29, 38-45.
- Molinari, M., Minciacchi, D., Bentivoglio, M., & Macchi, G. (1985). Efferent fibers from the motor cortex terminate bilaterally in the thalamus of rats and cats. *Experimental brain research*, 57(2), 305-312.
- Molnár, E., (2008). Molecular organization and regulation of glutamate receptors in developing and adult mammalian central nervous systems. In: Lajtha, A., Vizi, E.S. (Eds.), *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Neurotransmitter Systems*, third ed. Springer Reference, pp. 415e441. Mony,
- Monaco, S. A., Gulchina, Y., & Gao, W. J. (2015). NR2B subunit in the prefrontal cortex: A double-edged sword for working memory function and psychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 56, 127-138.

Monahan, J. B., Handelman, G. E., Hood, W. F., & Cordi, A. A. (1989). D-cycloserine, a positive modulator of the N-methyl-D-aspartate receptor, enhances performance of learning tasks in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 34(3), 649–53.

Moorman, D.E., & Aston-Jones, G. (2015). Prefrontal neurons encode context-based response execution and inhibition in reward seeking and extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(30), 9472-7.

Morgan, M.A., Romanski, L.M., LeDoux, J.E. (1993). Extinction of emotional learning: Contribution of medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 163(1), 109-113.

Morgan, M. A., & LeDoux, J. E. (1995). Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behavioral neuroscience*, 109(4), 681.

Morris, R. G. (1989). Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 9(9), 3040–57.

Morrow, B.A., Elsworth, J.D., Rasmusson, A.M., & Roth, R.H. (1999). The role of mesoprefrontal dopamine neurons in the acquisition and expression of conditioned fear in the rat. *Neuroscience*, 92(2), 553-564.

Mothet, J.P., Rouaud, E., Sinet, P.M., Potier, B., Jouvenceau, A., Dutar, P., Videau, C., Epelbaum, J., Billard, J.M., (2006). A critical role for the glial-derived neuro- modulator D-serine in the age-related deficits of cellular mechanisms of learning and memory. *Aging Cell* 5, 267e274.

Mothet, J.P., Le Bail, M., & Billard, J.M. (2015). Time and space profiling of NMDA receptor co-agonist functions. *Journal of Neurochemistry*, 135(2), 210-225.

Mouroux, M., Hassani, O. K., & Feger, J. (1995). Electrophysiological study of the excitatory parafascicular projection to the subthalamic nucleus and evidence for ipsi- and contralateral controls. *Neuroscience*, 67(2), 399-407.

Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. J., Sakmann, B., & Seeburg, P. H. (1994). Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron*, 12(3), 529-540.

Muir, J.L., Everitt, B.J., & Robbins, T.W. (1996). The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cerebral Cortex*, 6(3), 470-81.

Murphy, B. L., Arnsten, A. F., Goldman-Rakic, P. S., & Roth, R. H. (1996a). Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(3), 1325-1329.

Murphy, B. L., Arnsten, A. F., Jentsch, J. D., & Roth, R. H. (1996b). Dopamine and spatial working memory in rats and monkeys: pharmacological reversal of stress-induced impairment. *Journal of Neuroscience*, 16(23), 7768-7775.

Murphy, E. R., Dalley, J. W., & Robbins, T. W. (2005). Local glutamate receptor antagonism in the rat prefrontal cortex disrupts response inhibition in a visuospatial attentional task. *Psychopharmacology*, 179(1), 99–107.

- Myers, K M, & Carlezon Jr, W. A. (2010). D-cycloserine facilitates extinction of naloxone-induced conditioned place aversion in morphine-dependent rats. *Biological psychiatry*, 67(1), 85–87.
- Myers, K M, & Davis, M. (2002). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron*, 36(4), 567–584.
- Myers, K M, & Davis, M. (2007). Mechanisms of fear extinction. *Molecular psychiatry*, 12(2), 120–150.
- Nadeau SE, Davis SE, Wu SS, Dai Y, Richards LG (2014) A pilot randomized controlled trial of D-cycloserine and distributed practice as adjuvants to constraint-induced movement therapy after stroke. *Neurorehabil Neural Repair* 28:885–895.
- Nanda, B., Galvan, A., Smith, Y., & Wichmann, T. (2009). Effects of stimulation of the centromedian nucleus of the thalamus on the activity of striatal cells in awake rhesus monkeys. *European Journal of Neuroscience*, 29(3), 588–598.
- Narayanan, N. S., & Laubach, M. (2009). Delay activity in rodent frontal cortex during a simple reaction time task. *Journal of neurophysiology*, 101(6), 2859–2871.
- Narayanan, N. S., Cavanagh, J. F., Frank, M. J., & Laubach, M. (2013). Common medial frontal mechanisms of adaptive control in humans and rodents. *Nature neuroscience*, 16(12), 1888–1895.
- Nave, A. M., Tolin, D. F., & Stevens, M. C. (2012). Exposure therapy, D-cycloserine, and functional magnetic resonance imaging in patients with snake phobia: a randomized pilot study. *The Journal of clinical psychiatry*, 73(9), 1179–86.
- Neafsey, E. J., Hurley-Gius, K. M., & Arvanitis, D. (1986). The topographical organization of neurons in the rat medial frontal, insular and olfactory cortex projecting to the solitary nucleus, olfactory bulb, periaqueductal gray and superior colliculus. *Brain research*, 377(2), 561–570.
- Newcomer, J. W., Farber, N. B., Jevtovic-Todorovic, V., Selke, G., Melson, A. K., Hershey, T., ... & Olney, J. W. (1999). Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 20(2), 106–118.
- Nic Dhonnchadha, B. A., Szalay, J. J., Achat-Mendes, C., Platt, D. M., Otto, M. W., Spealman, R. D., Kantak, K. M., et al. (2010). D-cycloserine Deters Reacquisition of Cocaine Self-Administration by Augmenting Extinction Learning. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(2), 357–367.
- Nickols, H. H., & Conn, P. J. (2014). Development of allosteric modulators of GPCRs for treatment of CNS disorders. *Neurobiology of Disease*, 61, 10.1016/j.nbd.2013.09.013.
- Nitsche MA, Jaussi W, Liebetanz D, Lang N, Tergau F, Paulus W (2004) Consolidation of human motor cortical neuroplasticity by D-cycloserine. *Neuropsychopharmacology* 29:1573–1578.
- Nishikawa, T. (2010). [Development of a novel pharmacotherapy targeted at the N-methyl-D-aspartate receptor- D-serine system for schizophrenia]. *Nihon shinkei seishin yakurigaku zasshi = Japanese journal of psychopharmacology*, 30(5–6), 201–6.
- Nong, Y.; Huang, Y-Q.; Ju, W.; Kalia, L. V.; Ahmadian, G.; Wang, Y. T.; Salter, M. W. Glycine binding primes NMDA receptor inter- nalization. *Nature*, 2003, 422, 302–307.

- Norberg, M.M., Krystal, J.H. y Tol in, D.F. (2008). A meta-analysis of D-Cycloserine and the facilitation of fear extinction and exposure therapy. *Biological Psychiatry*, 63, 1118-1126.
- Normann, C., & Berger, M. (2008). Neuroenhancement: status quo and perspectives. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 258 Suppl, 110-4.
- Nunnink, M., Davenport, R. A., Ortega, B., & Houpt, T. A. (2007). D-Cycloserine enhances conditioned taste aversion learning in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 87(3), 321-30.
- O'Connor, R.M., Finger, B.C., Flor, P.J., & Cryan, J.F. (2010). Metabotropic glutamate receptor 7: at the interface of cognition and emotion. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 123-131.
- Ohno, M., & Watanabe, S. (1996). D-cycloserine, a glycine site agonist, reverses working memory failure by hippocampal muscarinic receptor blockade in rats. *European journal of pharmacology*, 318(2-3), 267-271.
- Ohno, M., & Watanabe, S. (1998). Enhanced N-methyl-D-aspartate function reverses working memory failure induced by blockade of group I metabotropic glutamate receptors in the rat hippocampus. *Neuroscience letters*, 240(1), 37-40.
- Oliver, M.W., Larson, J., Lynch, G., (1990). Activation of the glycine site associated with the NMDA receptor is required for induction of LTP in neonatal hippocampus. *Int. J. Dev. Neurosci.* 8, 417e424.
- Olpe, H. R., Wörner, W., & Ferrat, T. (1993). Stimulation parameters determine role of GABAB receptors in long-term potentiation. *Experientia*, 49(6-7), 542-6.
- Olton, D. S., Wenk, G. L., Church, R. M., & Meck, W. H. (1988). Attention and the frontal cortex as examined by simultaneous temporal processing. *Neuropsychologia*, 26(2), 307-318.
- Otto, M. W., Tolin, D. F., Simon, N. M., Pearlson, G. D., Basden, S., Meunier, S. a, Hofmann, S. G., Eisenmenger K., Krystal j.H., Pollack M.H. (2010). Efficacy of d-cycloserine for enhancing response to cognitive-behavior therapy for panic disorder. *Biological psychiatry*, 67(4), 365-70.
- Packard, M. G., & Teather, L. A. (1997). Posttraining injections of MK-801 produce a time-dependent impairment of memory in two water maze tasks. *Neurobiology of learning and memory*, 68(1), 42-50.
- Pandya, D. N., & Yeterian, E. H. (1990). The prefrontal cortex: its structure, function and pathology. *Progress in brain research*.
- Paoletti P., Bellone C. and Zhou Q. (2013) NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 383-400.
- Paolone, G., Botreau, F., & Stewart, J. (2009). The facilitative effects of D-cycloserine on extinction of a cocaine-induced conditioned place preference can be long lasting and resistant to reinstatement. *Psychopharmacology*, 202(1-3), 403-409.
- Parada-Turska, J., & Turski, W. A. (1990). Excitatory amino acid antagonists and memory: effect of drugs acting at N-methyl-D-aspartate receptors in learning and memory tasks. *Neuropharmacology*, 29(12), 1111-6.

Parent, A., Charara, A., & Pinault, D. (1995). Single striatofugal axons arborizing in both pallidal segments and in the substantia nigra in primates. *Brain research*, 698(1), 280-284.

Parent, M., & Parent, A. (2005). Single-axon tracing and three-dimensional reconstruction of centre médian-parafascicular thalamic neurons in primates. *Journal of Comparative Neurology*, 481(1), 127-144.

Parnas, a S., Weber, M., & Richardson, R. (2005). Effects of multiple exposures to D-cycloserine on extinction of conditioned fear in rats. *Neurobiology of learning and memory*, 83(3), 224-31.

Parpura V. and Verkhratsky A. (2013) Astroglial amino acid-based transmitter receptors. *Amino Acids* 44, 1151-1158.

Parsons CG, Stoffler A, Danysz W. Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system--too little activation is bad, too much is even worse. *Neuropharmacology* 2007; 53: 699-723.

Parsons, M. P.; Raymond, L. A. Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders. *Neuron*, 2014, 82, 279-293.

Partin, K.M. (2015). AMPA receptor potentiators: from design to cognitive enhancement. *Current Opinion in Pharmacology*, 20, 46-53.

Parwani, A., Weiler, M. A., Blaxton, T. A., Warfel, D., Hardin, M., Frey, K., & Lahti, A. C. (2005). The effects of a subanesthetic dose of ketamine on verbal memory in normal volunteers. *Psychopharmacology*, 183(3), 265-274.

Passetti, F., Dalley, J. W., O'connell, M. T., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2000). Increased acetylcholine release in the rat medial prefrontal cortex during performance of a visual attentional task. *European Journal of Neuroscience*, 12(8), 3051-3058.

Passetti, F., Chudasama, Y., & Robbins, T. W. (2002). The frontal cortex of the rat and visual attentional performance: dissociable functions of distinct medial prefrontal subregions. *Cerebral cortex*, 12(12), 1254-68.

Passetti, F., Levita, L., & Robbins, T. W. (2003). Sulpiride alleviates the attentional impairments of rats with medial prefrontal cortex lesions. *Behavioural brain research*, 138(1), 59-69.

Patel, N., Spangler, E. L., Greig, N. H., Yu, Q. S., Ingram, D. K., & Meyer, R. C. (1998). Phenserine, a novel acetylcholinesterase inhibitor, attenuates impaired learning of rats in a 14-unit T-maze induced by blockade of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Neuroreport*, 9(1), 171-6.

Paus, T., Zatorre, R. J., Hofle, N., Caramanos, Z., Gotman, J., Petrides, M., & Evans, A. C. (1997). Time-related changes in neural systems underlying attention and arousal during the performance of an auditory vigilance task. *Journal of cognitive neuroscience*, 9(3), 392-408.

Pawlak, C. R., Chen, F.-S., Wu, F.-Y., & Ho, Y.-J. (2012). Potential of D-cycloserine in the treatment of behavioral and neuroinflammatory disorders in Parkinson's disease and studies that need to be performed before clinical trials. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 28(8), 407-17.

Peloquin CA (2008) Clinical pharmacology of the antitubercu- losis drugs. In: Clinical tuberculosis, Fourth Edition (Davies PDO, Barnes PF, Gordon SB, eds), pp 205-224. Boca Raton: CRS Press.

- Peters, J., & De Vries, T. J. (2013). D-cycloserine administered directly to infralimbic medial prefrontal cortex enhances extinction memory in sucrose-seeking animals. *Neuroscience*, *230*, 24–30.
- Philbert, J., Belzung, C., & Griebel, G. (2013). The CRF1 receptor antagonist SSR125543 prevents stress-induced cognitive deficit associated with hippocampal dysfunction: Comparison with paroxetine and D-cycloserine. *Psychopharmacology*, *228*(1), 97–107.
- Picchioni, D., Pixa, M.L., Fukunaga, M., Carr, W.S., Horovitz, S.G., Braun, A.R., & Duyn, J.H. (2014). Decreased connectivity between the thalamus and the neocortex during human nonrapid eye movement sleep. *Sleep*, *37*(2), 387–97.
- Picillo, M., Rohani, M., Lozano, A.M., & Fasano, A. (2017). Two indications, one target: Concomitant epilepsy and Tourettism treated with Centromedian/parafascicular thalamic stimulation. *Brain Stimulation*,
- Pinto, M. C. X.; de Assis Lima, I. V.; da Costa, F. L. P.; Rosa, D. V.; Mendes-Goulart, V. A.; Resende, R. R.; Romano-Silva, M. A.; de Oliverira, A. C. P.; Gomez, M. V.; Gomez, R. S. Glycine transporters type 1 inhibitor promotes brain preconditioning against NMDA-induced excitotoxicity. *Neuropharmacology*, 2015, *89*, 274–281.
- Piray, P., Toni, I., & Cools, R. (2016). Human Choice Strategy Varies with Anatomical Projections from Ventromedial Prefrontal Cortex to Medial Striatum. *Journal of Neuroscience*, *36*(10), 2857–67.
- Pitkänen, M., Sirviö, J., MacDonald, E., Ekonsalo, T., & Riekkinen, P. (1995). The effects of d-cycloserine, a partial agonist at the glycine binding site, on spatial learning and working memory in scopolamine-treated rats. *Journal of neural transmission. Parkinson's disease and dementia section*, *9*(2-3), 133–44.
- Piyabhan, P., & Wetchateng, T. (2013). Cognitive enhancement effects of Bacopa monnieri (Brahmi) on novel object recognition and VGLUT1 density in the prefrontal cortex, striatum, and hippocampus of sub-chronic phencyclidine rat model of schizophrenia. *Journal of the Medical Association of Thailand*, *96*(5), 625–32.
- Piyabhan, P., & Wetchateng, T. (2015). Bacopa monnieri (Brahmi) Enhanced Cognitive Function and Prevent Cognitive Impairment by increasing VGLUT2 Immunodensity in Prefrontal Cortex of Sub-Chronic Phencyclidine Rat Model of Schizophrenia. *Journal of the Medical Association of Thailand*, *98*(3), 7–15.
- Port, R. L., & Seybold, K. S. (1998). Manipulation of NMDA-receptor activity alters extinction of an instrumental response in rats. *Physiology & Behavior*, *64*(3), 391–393.
- Portero-Tresserra M, Cristóbal-Narváez P, Martí-Nicolovius M, Guillazo-Blanch G, Vale-Martínez A (2013) D-cycloserine in Prelimbic Cortex Reverses Scopolamine-Induced Deficits in Olfactory Memory in Rats. *PLoS ONE* *8*(8): e70584. doi:10.1371/journal.pone.0070584
- Portero-Tresserra, M., Del Olmo, N., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G., & Vale-Martínez, A. (2014). D-cycloserine prevents relational memory deficits and suppression of long-term potentiation induced by scopolamine in the hippocampus. *European Neuropsychopharmacology*, *24*, 1798–1807.
- Posey, D. J., Kem, D. L., Swiezy, N. B., Sweeten, T. L., Wiegand, R. E., & McDougle, C. J. (2004). A pilot study of D-cycloserine in subjects with autistic disorder. *The American journal of psychiatry*, *161*(11), 2115–7.

Pozzi, L., Baviera, M., Sacchetti, G., Calcagno, E., Balducci, C., Invernizzi, R. W., & Carli, M. (2011). Attention deficit induced by blockade of N-methyl D-aspartate receptors in the prefrontal cortex is associated with enhanced glutamate release and cAMP response element binding protein phosphorylation: role of metabotropic glutamate receptors 2/3. *Neuroscience*, 176, 336–48.

Prado, V. F., Janickova, H., Al-Onaizi, M. A., & Prado, M. A. (2017). Cholinergic circuits in cognitive flexibility. *Neuroscience*, 345, 130-141.

Preissman, D., Leuba, G., Savary, C., Vernay, A., Kraftsik, R., Riederer, I.M., Schenk, F., Riederer, B.M., & Savioz, A. (2012). Increased postsynaptic density protein-95 expression in the frontal cortex of aged cognitively impaired rats. *Experimental Biology and Medicine*, 237(11), 1331-1340.

Price, K. L., Baker, N. L., McRae-Clark, A. L., Saladin, M. E., Desantis, S. M., Santa Ana, E. J., & Brady, K. T. (2013). A randomized, placebo-controlled laboratory study of the effects of D: -cycloserine on craving in cocaine-dependent individuals. *Psychopharmacology*, 226(4), 739-46.

Price, K. L., McRae-Clark, A. L., Saladin, M. E., Maria, M. M. M.-S., DeSantis, S. M., Back, S. E., & Brady, K. T. (2009). D-cycloserine and cocaine cue reactivity: preliminary findings. *The American journal of drug and alcohol abuse*, 35(6), 434–8.

Prisciandaro, J. J., Myrick, H., Henderson, S., McRae-Clark, A. L., Santa Ana, E. J., Saladin, M. E., & Brady, K. T. (2013). Impact of DCS-facilitated cue exposure therapy on brain activation to cocaine cues in cocaine dependence. *Drug and alcohol dependence*.

Puig, M. V., Rose, J., Schmidt, R., & Freund, N. (2014). Dopamine modulation of learning and memory in the prefrontal cortex: insights from studies in primates, rodents, and birds.

Pussinen, R., & Sirvio, J. (1999). Effects of D-cycloserine, a positive modulator of N-methyl-D-aspartate receptors, and ST 587, a putative alpha-1 adrenergic agonist, individually and in combination, on the non- delayed and delayed foraging behaviour of rats assessed in the radial arm maze. *Journal of Psychopharmacology*, 13(2), 171–179.

Quartini, A., Iannitelli, A., & Bersani, G. (2016). Lithium: from mood stabilizer to putative cognitive enhancer. *Neural Regeneration Research*, 11(8), 1234-1235.

Quirk, G. J., Garcia, R., & González-Lima, F. (2006). Prefrontal mechanisms in extinction of conditioned fear. *Biological psychiatry*, 60(4), 337-343.

Quiroz, C., Orrú, M., Rea, W., Ciudad-Roberts, A., Yepes, G., Britt, J. P., & Ferré, S. (2016). Local Control of Extracellular Dopamine Levels in the Medial Nucleus Accumbens by a Glutamatergic Projection from the Infralimbic Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 36(3), 851–859.

Quiroz-Padilla, M. F., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martinez, A., Martí-Nicolovius, M., Vale-Martínez, A., & Martí-Nicolovius, M. (2006). Excitotoxic lesions of the parafascicular nucleus produce deficits in a socially transmitted food preference. *Neurobiology of learning and memory*, 86(3), 256–63.

Quiroz-Padilla, M.F., Guillazo-Blanch, G., Vale-Martínez, A., Torras-García, M., & Martí-Nicolovius, M. (2007). Effects of parafascicular excitotoxic lesions on two-way active avoidance and odor-discrimination. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88(2), 198-207.

Quiroz-Padilla, M.F., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G. (2010). Núcleos intralaminares posteriores del tálamo y procesos cognitivos. *Rev Neurol*, 51(04):217-225.

- Ragozzino, M. E., Adams, S., & Kesner, R. P. (1998). Differential involvement of the dorsal anterior cingulate and prelimbic–infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in spatial working memory. *Behavioral neuroscience*, *112*(2), 293.
- Ragozzino, M.E., & Kesner, R.P. (1998). The Effects of Muscarinic Cholinergic Receptor Blockade in the Rat Anterior Cingulate and Prelimbic/Infralimbic Cortices on Spatial Working Memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *69*(3), 241-257.
- Ragozzino, M.E., Wilcox, C., Raso, M., & Kesner, R.P. (1999a). Involvement of rodent prefrontal cortex subregions in strategy switching. *Behavioral Neuroscience*, *113*(1), 32-41.
- Ragozzino, M.E., Detrick, S., & Kesner, R.P. (1999b). Involvement of the Prelimbic-Infralimbic Areas of the Rodent Prefrontal Cortex in Behavioral Flexibility for Place and Response Learning. *The Journal of Neuroscience*, *19*(11), 4585-4594.
- Ragozzino, M.E. (2002). The Effects of Dopamine D<sub>1</sub> Receptor Blockade in the Prelimbic-Infralimbic Areas on Behavioral Flexibility. *Learning & Memory*, *9*, 18-28.
- Ragozzino, M.E., Detrick, S., & Kesner, R.P. (2002). The Effects of Prelimbic and Infralimbic Lesions on Working Memory for Visual Objects in Rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, *77*(1), 29-43.
- Ragozzino, M.E., Kim, J., Hassert, D., Minniti, N., & Kiang, C. (2003). The contribution of the rat prelimbic-infralimbic areas to different forms of task switching. *Behavioral Neuroscience*, *117*(5), 1054-1065.
- Ragozzino, M. E. (2007). The contribution of the medial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and dorsomedial striatum to behavioral flexibility. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1121*(1), 355-375.
- Randall, R.D., Lee, S.Y., Meyer, J.H., Wittenberg, G.F., Gruol, D.L., (1995). Acute alcohol blocks neurosteroid modulation of synaptic transmission and long-term potentiation in the rat hippocampal slice. *Brain Res.* *701*, 238e248.
- Ray, J. P., & Price, J. L. (1992). The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain–prefrontal cortex topography. *Journal of Comparative Neurology*, *323*(2), 167-197.
- Ray, J. P., & Price, J. L. (1993). The organization of projections from the mediodorsal nucleus of the thalamus to orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, *337*(1), 1-31.
- Reddy, P.H., Mani, G., Park, B.S., Jacques, J., Murdoch, G., Whetsell, W. Jr., Kaye, J., & Manczak, M. (2005). Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer’s disease: Implications for synaptic dysfunction. *Journal of Alzheimer’s Disease*, *7*(2), 103-117.
- Reep, R. L., & Winans, S. S. (1982). Efferent connections of dorsal and ventral agranular insular cortex in the hamster, *Mesocricetus auratus*. *Neuroscience*, *7*(11), 2609-2635.
- Rich, E. L., & Shapiro, M. L. (2007). Prelimbic/infralimbic inactivation impairs memory for multiple task switches, but not flexible selection of familiar tasks. *Journal of Neuroscience*, *27*(17), 4747-4755.
- Roberts, B. M., Shaffer, C. L., Seymour, P. A., Schmidt, C. J., Williams, G. V., & Castner, S. A. (2010). Glycine transporter inhibition reverses ketamine-induced working memory deficits. *Neuroreport*, *21*(5), 390–4.



- Rodgers, R. J., Harvest, H., Hassall, C., & Kaddour, L. A. (2011). D-cycloserine enhances memory consolidation in the plus-maze retest paradigm. *Behavioral neuroscience*, *125*(1), 106–116.
- Rodriguez-Sabate, C., Llanos, C., Morales, I., Garcia-Alvarez, R., Sabate, M., & Rodriguez, M. (2015). The functional connectivity of intralaminar thalamic nuclei in the human basal ganglia. *Human Brain Mapping*, *36*(4), 1335–47.
- Room, P., Russchen, F. T., Groenewegen, H. J., & Lohman, A. H. (1985). Efferent connections of the prelimbic (area 32) and the infralimbic (area 25) cortices: an anterograde tracing study in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, *242*(1), 40–55.
- Rose, J. E., & Woolsey, C. N. (1948). The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Research publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease*, *27* (1 vol.), 210–32.
- Rosse, R. B., Fay-McCarthy, M., Kendrick, K., Davis, R. E., & Deutsch, S. I. (1996). D-cycloserine adjuvant therapy to molindone in the treatment of schizophrenia. *Clinical neuropharmacology*, *19*(5), 444–50.
- Royce, G. J., Bromley, S., & Gracco, C. (1991). Subcortical projections to the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, *306*(1), 129–155.
- Quartermain, D., Mower, J., Rafferty, M. F., Herting, R. L., & Lanthorn, T. H. (1994a). Acute but not chronic activation of the NMDA-coupled glycine receptor with D-cycloserine facilitates learning and retention. *European journal of pharmacology*, *257*(1-2), 7–12.
- Ranaldi, R., Kest, K., Zellner, M. R., Lubelski, D., Muller, J., Cruz, Y., & Saliba, M. (2011). The effects of VTA NMDA receptor antagonism on reward-related learning and associated c-fos expression in forebrain. *Behavioural brain research*, *216*(1), 424–32.
- Randolph C, Roberts JW, Tierney MC, Bravi D, Mouradian MM, Chase TN (1994) D-cycloserine treatment of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 8:198–205.
- Rebola, N., Srikumar, B. N., & Mulle, C. (2010). Activity-dependent synaptic plasticity of NMDA receptors. *The Journal of physiology*, *588*(Pt 1), 93–9.
- Reep, R. L., Corwin, J. V., Hashimoto, A., & Watson, R. T. (1987). Efferent connections of the rostral portion of medial agranular cortex in rats. *Brain research bulletin*, *19*(2), 203–221.
- Ren, J., Li, X., Zhang, X., Li, M., Wang, Y., & Ma, Y. (2013). The effects of intra-hippocampal microinfusion of D-cycloserine on fear extinction, and the expression of NMDA receptor subunit NR2B and neurogenesis in the hippocampus in rats. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, *44*, 257–64.
- Ressler, K. J., Rothbaum, B. O., Tannenbaum, L., Anderson, P., Graap, K., Zimand, E., Hodges, L., et al. (2004). Cognitive enhancers as adjuncts to psychotherapy: use of D-cycloserine in phobic individuals to facilitate extinction of fear. *Archives of general psychiatry*, *61*(11), 1136–44.
- Rich, E. L., & Shapiro, M. L. (2007). Prelimbic/infralimbic inactivation impairs memory for multiple task switches, but not flexible selection of familiar tasks. *Journal of Neuroscience*, *27*(17), 4747–4755.
- Riekkinen, M., Kemppainen, S., & Riekkinen, P. (1997). Effects of stimulation of alpha 1-adrenergic and NMDA/glycine-B receptors on learning defects in aged rats. *Psychopharmacology*, *131*(1), 49–56.

- Riekkinen, M., & Riekkinen, P. (1997a). Nicotine and D-cycloserine enhance acquisition of water maze spatial navigation in aged rats. *Neuroreport*, 8(3), 699–703.
- Riekkinen, M., & Riekkinen, P. (1997b). Dorsal hippocampal muscarinic acetylcholine and NMDA receptors disrupt water maze navigation. *Neuroreport*, 8(3), 645–8.
- Riekkinen, P., Ikonen, S., & Riekkinen, M. (1998a). D-cycloserine, a partial NMDA receptor-associated glycine- B site agonist, enhances reversal learning, but a cholinesterase inhibitor and nicotine has no effect. *Neuroreport*, 9(16), 3647–51.
- Riekkinen, P., Ikonen, S., & Riekkinen, M. (1998b). Tetrahydroaminoacridine, a cholinesterase inhibitor, and D- cycloserine, a partial NMDA receptor-associated glycine site agonist, enhances acquisition of spatial navigation. *Neuroreport*, 9(7), 1633–7.
- Riekkinen, P., Ikonen, S., Aura, J., & Riekkinen, M. (1999). Tetrahydroaminoacridine and D-cycloserine fail to alleviate the water maze spatial navigation defect induced by hippocampal inactivation. *European journal of pharmacology*, 366(1), 13–8.
- Roberts, M., & Shapiro, M. (2002). NMDA receptor antagonists impair memory for nonspatial, socially transmitted food preference. *Behavioral Neuroscience*, 116(6), 1059–1069.
- Rothbaum B.O., Price M., Jovanovic T., Norrholm S.D., Gerardi M., Dunlop B., Davis M., Bradley B., Duncan E.J., Rizzo A., Ressler K.J. (2014) A randomized, double-blind evaluation of D-cycloserine or Alprazolam combined with virtual reality expouser therapy for posttraumatic stress disorder in Iraq and Afghanistan war veterans. *The American Journal of Psychiatry*, 171 (6): 640-8.
- Rozpędek, W., Pytel, D., Diehl, J.A., & Majsterek, I. (2016). Small molecule inhibitors of PERK-dependent signaling pathway as a novel, therapeutic molecular strategy in Alzheimers's disease treatment. *Polish Medical Journal*, 41(241), 5-10.
- Saalmann, Y.B. (2014). Intralaminar and medial thalamic influence on cortical synchrony, information transmission and cognition. *Frontiers in systems neuroscience*, 8, 83.
- Sadikot, A. F., Parent, A., & Francois, C. (1992). Efferent connections of the centromedian and parafascicular thalamic nuclei in the squirrel monkey: a PHA-L study of subcortical projections. *Journal of Comparative Neurology*, 315(2), 137-159.
- Sadikot, A. F., & Rymar, V. V. (2009). The primate centromedian–parafascicular complex: anatomical organization with a note on neuromodulation. *Brain research bulletin*, 78(2), 122-130.
- Saffari, R., Teng, Z., Zhang, M., Kravchenko, M., Hohoff, C., Ambrée, O., & Zhang, W. (2016). NPY<sup>+</sup>, but not PV<sup>+</sup>-GABAergic neurons mediated long-range inhibition from infra- to prelimbic cortex. *Translational Psychiatry*, 6(2), e736
- Safory H., Neame S., Shulman Y. et al. (2015) The alanine-serine- cysteine-1 (Asc-1) transporter controls glycine levels in the brain and is required for glycinergic inhibitory transmission. *EMBO Rep.* 16, 590–598.
- Saito, Y., Matsumoto, M., Yanagawa, Y., Hiraide, S., Inoue, S., Kubo, Y., Shimamura, K.-I., et al. (2013). Facilitation of fear extinction by the 5-HT(1A) receptor agonist tandospirone: Possible involvement of dopaminergic modulation. *Synapse*, 67, 161–70.
- Santa Ana, E. J., Rounsaville, B. J., Frankforter, T. L., Nich, C., Babuscio, T., Poling, J., Gonsai, K., et al. (2009). D-Cycloserine attenuates reactivity to smoking cues in nicotine dependent smokers: a pilot investigation. *Drug and alcohol dependence*, 104(3), 220–7.

- Saper, C. B. (1984). Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Magnocellular basal nucleus. *The Journal of comparative neurology*, 222(3), 313–42.
- Saper, C. B. (1985). Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Hypothalamocortical projections. *Journal of Comparative Neurology*, 237(1), 21–46.
- Sapkota, K., Mao, Z., Synowicki, P., Lieber, D., Liu, M., Ikezu, T., Gautam, V., & Monaghan, D.T. (2016). GluN2D N-Methyl-d-Aspartate Receptor Subunit Contribution to the stimulation of Brain Activity and Gamma Oscillations by Ketamine: Implications for Schizophrenia. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 356(3), 702–11.
- Sara, S. J., Rouillet, P., & Przybyslawski, J. (1999). Consolidation of memory for odor-reward association: beta- adrenergic receptor involvement in the late phase. *Learning & memory*, 6(2), 88–96.
- Sarıdogan, GE., Aykaç, A., Cabadak, H., Cerit, C., Çalışkan, M., & Gören, MZ. (2015). D-Cycloserine acts via increasing the GluN1 protein expressions in the frontal cortex and decreases the avoidance and risk assessment behaviors in a rat traumatic stress model. *Behavioural Brain Research*, 293, 227–233.
- Sarter, M., Bruno, J. P., Givens, B., Moore, H., McGaughy, J., & McMahan, K. (1996). Neuronal mechanisms mediating drug-induced cognition enhancement: cognitive activity as a necessary intervening variable. *Cognitive Brain Research*, 3(3), 329–343.
- Sarter, M., Bruno, J. P., & Givens, B. (2003). Attentional functions of cortical cholinergic inputs: what does it mean for learning and memory?. *Neurobiology of learning and memory*, 80(3), 245–256.
- Sarter, M., & Parikh, V. (2005). Choline transporters, cholinergic transmission and cognition. *Nature reviews. Neuroscience*, 6(1), 48–56.
- Sartori, S.B., Maurer, V., Murphy, C., Schmuckermair, C., Muigg, P., Neumann, I.D., Whittle, N., & Singewald, N. Combined Neuropeptide S and D-cycloserine Augmentation Prevents the Return of Fear in Extinction-Impaired Rodents: Advantage of Dual versus Single Drug Approaches. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(6), 128.
- Sasaki, K., Omotugui, O.I., Ueda, M., Shinohara, K., & Ueda, H. (2015). NMDA receptor agonists reverse impaired psychomotor and cognitive functions associated with hippocampal Hbegf-deficiency in mice. *Molecular Brain*, 8(1), 83.
- Satoh, K., & Fibiger, H. C. (1986). Cholinergic neurons of the laterodorsal tegmental nucleus: efferent and afferent connections. *Journal of Comparative Neurology*, 253(3), 277–302.
- Saund, J., Dautan, D., Rostron, C., Urcelay, G. P., & Gerdjikov, T. V. (2017). Thalamic inputs to dorsomedial striatum are involved in inhibitory control: evidence from the five-choice serial reaction time task in rats. *Psychopharmacology*, 1–9.
- Schade, S., & Paulus, W. (2016). D-Cycloserine in Neuropsychiatric Diseases: A Systematic Review. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(4), 1–7.
- Scheidegger, M., Henning, A., Walter, M., Boeker, H., Weigand, A., Serifritz, E., & Grimm, S. (2016). Effects of ketamine on cognition-emotion interaction in the brain. *Neuroimage*, 124(PtA), 8–15.
- Schepers, I. M., Beck, A. K., Bräuer, S., Schwabe, K., Abdallat, M., Sandmann, P., ... & Krauss, J. K. (2017). Human centromedian-parafascicular complex signals sensory cues for goal-oriented behavior selection. *NeuroImage*, 152, 390–399.

- Schiff, N. D. (2016). Mesocircuit mechanisms underlying recovery of consciousness following severe brain injuries: model and predictions. In *Brain Function and Responsiveness in Disorders of Consciousness* (pp. 195-204). Springer International Publishing.
- Schneider, J. ., Tinker, J. P., Van Velson, M., & Giardiniere, M. (2000). Effects of the partial glycine agonist d- cycloserine on cognitive functioning in chronic low dose MPTP-treated monkeys. *Brain Research*, 860(1- 2), 190–194.
- Schroeter, M. L., Vogt, B., Frisch, S., Becker, G., Barthel, H., Mueller, K., Villringer, A., et al. (2012). Executive deficits are related to the inferior frontal junction in early dementia. *Brain: a journal of neurology*, 135(Pt 1), 201–15.
- Schuster, G. M., & Schmidt, W. J. (1992). D-cycloserine reverses the working memory impairment of hippocampal-lesioned rats in a spatial learning task. *European journal of pharmacology*, 224(1), 97–98.
- Schwarcz R., Bruno J. P., Muchowski P. J. and Wu H. Q. (2012) Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 465–477.
- Schwartz BL, Hashtroudi S, Herting RL, Schwartz P, Deutsch SI (1996) d-Cycloserine enhances implicit memory in Alzheimer patients. *Neurology* 46:420–424.
- Seamans, J. K., Floresco, S. B., & Phillips, A. G. (1995). Functional differences between the prelimbic and anterior cingulate regions of the rat prefrontal cortex. *Behavioral neuroscience*, 109(6), 1063.
- Seamans, J. K., Floresco, S. B., & Phillips, A. G. (1998). D1 receptor modulation of hippocampal–prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *Journal of neuroscience*, 18(4), 1613-1621.
- Selleck, R. A., & Baldo, B. A. (2017). Feeding-modulatory effects of mu-opioids in the medial prefrontal cortex: a review of recent findings and comparison to opioid actions in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 1-11.
- Semenova, U., Raeva, S., & Sedov, A. (2016). Participation of the thalamic CM-Pf complex in movement performance in patients with dystonia. *Movement Disorder: official journal of the Movement Disorder Society*, 31(9), 1398-404.
- Sengupta, A., & McNally, G.P. (2014). A role for midline and intralaminar thalamus in the associative blocking of Pavlovian fear conditioning. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 148.
- Sesack, S. R., Deutch, A. Y., Roth, R. H., & Bunney, B. S. (1989). Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology*, 290(2), 213-242.
- Shang, X., Shang, Y., Fu, J., & Zhang, T. (2016). Nicotine Significantly Improves Chronic Stress-Induced Impairments of Cognition and Synaptic Plasticity in Mice. *Molecular Neurobiology*, 1-15.
- Shang, Y., Wang, X., Shang, X., Zhang, H., Liu, Z., Yin, T., & Zhan, T. (2016). Repetitive transcranial magnetic stimulation effectively facilitates spatial cognition and synaptic plasticity associated with increasing the levels of BDNF and synaptic proteins in Wistar rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 134(B), 369-378.

- Shaw, D., Norwood, K., Sharp, K., Quigley, L., McGovern, S. F. J., & Leslie, J. C. (2009). Facilitation of extinction of operant behaviour in mice by D-cycloserine. *Psychopharmacology*, 202(1-3), 397–402.
- Shen, H-Y.; van Vliet, E. A.; Bright, K-A.; Hanthorn, M.; Lytle, N. K.; Gorter, J.; Aronica, E.; Boison, D. Glycine transporter 1 is a target for the treatment of epilepsy. *Neuropharmacology*, 2015, 99, 554-565.
- Sheng, M., Cummings, J., Roldan, L. A., Jan, Y. N., & Jan, L. Y. (1994). Changing subunit composition of heteromeric NMDA receptors during development of rat cortex. *Nature*, 368(6467), 144.
- Shirvalkar, P., Seth, M., Schiff, N. D., & Herrera, D. G. (2006). Cognitive enhancement with central thalamic electrical stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(45), 17007-17012.
- Shiroyama, T., Kayahara, T., Yasui, Y., Nomura, J., & Nakano, K. (1995). The vestibular nuclei of the rat project to the lateral part of the thalamic parafascicular nucleus (centromedian nucleus in primates). *Brain research*, 704(1), 130-134.
- Shukla, A., Beroun, A., Panopoulou, M., Neumann, P.A., Grant, S.G., Olive, M.F., Dong, Y., & Schlüter, O.M. (2017). Calcium-permeable AMPA receptors and silent synapses in cocaine-conditioned place preference. *The EMBO Journal*, 36, 458-474.
- Sidibe, M., Bevan, M. D., Bolam, J. P., & Smith, Y. (1997). Efferent connections of the internal globus pallidus in the squirrel monkey: I. Topography and synaptic organization of the pallidothalamic projection. *Journal of Comparative Neurology*, 382(3), 323-347.
- Sierra, RO., Nítola, LP., Duran, JM., Prieto, DR., León, LA., & Cardenas, FP. (2016). Medial orbitofrontal cortex lesion prevents facilitatory effects of D-cycloserine during fear extinction. *Behavioural Brain Research*, 296, 379-383.
- Silva Ade, M., de Santana, M.A., Morais, P.L., de Sousa, T.B., Engelberth, R.C., Lucena, E.E., Campêlo, C.L., Cavalcante, J.S., Cavalcante, J.C., Costa, M.S., & do Nascimento E.S. Jr. (2014). Serotonergic fibers distribution in the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rock cavy (*Kerodon rupestris*). *Brain Research*, 1586, 99-108.
- Silvestri, A. J., & Root, D. H. (2008). Effects of REM deprivation and an NMDA agonist on the extinction of conditioned fear. *Physiology & behavior*, 93(1-2), 274–81.
- Sim, L. J., & Joseph, S. A. (1992). Serotonin and substance P afferents to parafascicular and central medial nuclei. *Peptides*, 13(1), 171-176.
- Simon, R. P., Swan, J. H., Griffiths, T., & Meldrum, B. S. (1984). Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors may protect against ischemic damage in the brain. *Science*, 226(4676), 850–2.
- Simon, N.W., Wood, J., & Moghaddam, B. (2015). Action-outcome relationships are represented differently by medial prefrontal and orbitofrontal cortex neurons during action execution. *Journal of Neurophysiology*, 114(6), 3374-85.
- Sinopoli, K. J., Floresco, S. B., & Galea, L. A. (2006). Systemic and local administration of estradiol into the prefrontal cortex or hippocampus differentially alters working memory. *Neurobiology of learning and memory*, 86(3), 293-304.
- Sirichoat, A., Chaijaroonkhanarak, W., Prachaney, P., Pannangrong, W., Leksomboon, R., Chaichun, A., Wigmore, P., & Welbat, J.U. (2015). Effects of Asiatic Acid on Spatial Working Memory and Cell Proliferation in the Adult Rat Hippocampus. *Nutrients*, 7(10), 8413-8423.

Slutsky, I., Abumaria, N., Wu, L.J., Huang, C., Zhang, L., Li, B., Zhao, X., Govindarajan, A., Zhao, M.G., Zhuo, M., Tonegawa, S., Liu, G., (2010). Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *Neuron* 65(2), 165-177.

Smith, R. D., Grzelak, M. E., & Coffin, V. L. (1997). Reduction of dizocilpine and scopolamine-induced deficits in avoidance responding by SCH 54388, a metabolite of felbamate. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 58(3), 657-64.

Smith, Y., Raju, D. V., Pare, J. F., & Sidibe, M. (2004). The thalamostriatal system: a highly specific network of the basal ganglia circuitry. *Trends in neurosciences*, 27(9), 520-527.

Smith, S.M., Uslaner, J.M., Hutson, P.H., (2010). The therapeutic potential of D-amino acid oxidase (DAAO) inhibitors. *Open Med. Chem. J.* 4, 3e9.

Smits, J. A. J., Rosenfield, D., Otto, M. W., Powers, M. B., Hofmann, S. G., Telch, M. J., Pollack, M. H., et al. (2013). D-Cycloserine Enhancement of Fear Extinction is Specific to Successful Exposure Sessions: Evidence from the Treatment of Height Phobia. *Biological psychiatry*, 73(11), 1054-8.

Somogyi, P., Tamas, G., Lujan, R., & Buhl, E. H. (1998). Salient features of synaptic organisation in the cerebral cortex. *Brain research reviews*, 26(2), 113-135.

Stäubli, U., Rogers, G., Lynch, G., (1994a). Facilitation of glutamate receptors enhances memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 777e781.

Stäubli, U., Perez, Y., Xu, F.B., Rogers, G., Ingvar, M., Stone-Elander, S., Lynch, G., (1994b). Centrally active modulators of glutamate receptors facilitate the induction of long-term potentiation in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 11158e11162.

Stäubli, U., Thibault, O., DiLorenzo, M., & Lynch, G. (1989). Antagonism of NMDA receptors impairs acquisition but not retention of olfactory memory. *Behavioral neuroscience*, 103(1), 54-60.

Stecher, J., Müller, W. E., & Hoyer, S. (1997). Learning abilities depend on NMDA-receptor density in hippocampus in adult rats. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 104(2-3), 281-9.

Stefani, M.R., & Moghaddam, B. (2010). Activation of type 5 metabotropic glutamate receptors attenuates deficits in cognitive flexibility induced by NMDA receptor blockade. *European Journal of Pharmacology*, 639(1-3), 26-32.

Stevens, E.R., Gustafson, E.C., Miller, R.F., (2010). Glycine transport accounts for the differential role of glycine vs. D-serine at NMDA receptor coagonist sites in the salamander retina. *Eur. J. Neurosci.* 31, 808e816.

Stockburger, C., Miano, D., Pallas, T., Friedland, K., & Müller, W.E. Enhanced Neuroplasticity by the Metabolic Enhancer Piracetam Associated with Improved Mitochondrial Dynamics and Altered Permeability Transition Pore Function. *Neural Plasticity*, 2016:8075903.

Stoiljkovic, M., Kelley, C., Nagy, D., Hurst, R., & Hajós, M. (2016). Activation of  $\alpha 7$  nicotin acetylcholine receptors facilitates long-term potentiation at the hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *European Neuropsychopharmacology*, 26(12), 2018-2023.

Storch, E. a, Murphy, T. K., Goodman, W. K., Geffken, G. R., Lewin, A. B., Henin, A., Micco, J. a, et al. (2010). A preliminary study of D-cycloserine augmentation of cognitive-behavioral therapy in pediatric obsessive- compulsive disorder. *Biological psychiatry*, 68(11), 1073-6.

- Storozheva, Z. I., Solntseva, S. V., Nikitin, V. P., Proshin, A. T., & Sherstnev, V. V. (2011). Irreversible amnesia in rats and edible snails under conditions of associative memory reconsolidation disturbance caused by NMDA-glutamate receptor antagonist. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 150(3), 286–90.
- Steriade, M. (1996). Arousal: revisiting the reticular activating system. *Science (New York, NY)*, 272(5259), 225.
- Steriade, M., Jones, E. G., & McCormick, C. D. (1997). Thalamus. Intralaminar nuclei. *Elsevier, Amsterdam*, 1, 55-73.
- Strick, C.A., Li, C., Scott, L., Harvey, B., Hajos, M., Steyn, S.J., Piotrowski, M.A., James, L.C., Downs, J.T., Rago, B., Becker, S.L., El-Kattan, A., Xu, Y., Ganong, A.H., Tingley III, F.D., Ramirez, A.D., Seymour, P.A., Guanowsky, V., Majchrzak, M.J., Fox, C.B., Schmidt, C.J., Duplantier, A.J., (2011). Modulation of NMDA receptor function by inhibition of D-amino acid oxidase in rodent brain. *Neuropharmacology* 61, 1001e1015. Supplisson,
- Sunyer, B., Patil, S., Frischer, C., Hoeger, H., & Lubec, G. (2008). Strain-dependent effects of cognitive enhancers in the mouse. *Amino acids*, 34(3), 485–95.
- Supplisson, S., Bergman, C., (1997). Control of NMDA receptor activation by a glycine transporter co-expressed in *Xenopus oocytes*. *J. Neurosci.* 17, 4580e4590.
- Suzuki, S., Saitoh, A., Ohashi, M., Yamada, M., Oka, J., & Yamada, M. (2016). The infralimbic and prelimbic medial prefrontal cortices have differential functions in the expression of anxiety-like behaviors in mice. *Behavioural Brain Research*, 304, 120-124.
- Swanson, L. W. (1981). A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain research*, 217(1), 150-154.
- Swanson, L. W. (1998). Brain maps: structure of the brain rat. *Elsevier Science BV Press, Amsterdam, the Netherlands*.
- Takehara-Nishiuchi, K., Kawahara, S., & Kirino, Y. (2005). NMDA receptor-dependent processes in the medial prefrontal cortex are important for acquisition and the early stage of consolidation during trace, but not delay eyeblink conditioning. *Learning & Memory*, 12(6), 606–614.
- Tan, X., Gu, J., Zhao, B., Wang, S., Yuan, J., Wang, C., Chen, J., Liu, J., Feng, L., & Jia, X. (2015). Ginseng improves cognitive deficit via the RAGE/NF- $\kappa$ B pathway in advanced glycation end product-induced rats. *Journal of Ginseng Research*, 39(2), 116-124.
- Tanaka, M., Sokabe, M., (2012). Continuous de novo synthesis of neurosteroids is required for normal synaptic transmission and plasticity in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *Neuropharmacology* 62, 2373e2387.
- Tang, Y.P., Shimizu, E., Dube, G.R., Rampon, C., Kerchner, G.A., Zhuo, M., Liu, G., Tsien, J.Z., (1999). Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 401, 63e69.
- Tart, C. D., Handelsman, P. R., Deboer, L. B., Rosenfield, D., Pollack, M. H., Hofmann, S. G., Powers, M. B., et al. (2013). Augmentation of exposure therapy with post-session administration of D-cycloserine. *Journal of psychiatric research*, 47(2), 168–74.
- Taylor, J. R., Birnbaum, S., Ubriani, R., & Arnsten, A. F. (1999). Activation of cAMP-dependent protein kinase A in prefrontal cortex impairs working memory performance. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(18), RC23-RC23.

Taylor, C. J., Ohline, S. M., Moss, T., Ulrich, K. and Abraham, W. C. (2016). The persistence of long-term potentiation in the projection from ventral hippocampus to medial prefrontal cortex in awake rats. *European Journal of Neuroscience*, 43, 811–822.

Taylor, C. L., Latimer, M. P., & Winn, P. (2003). Impaired delayed spatial win-shift behaviour on the eight arm radial maze following excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex in the rat. *Behavioural brain research*, 147(1-2), 107–14.

Temple, M. D., & Hamm, R. J. (1996). Chronic, post-injury administration of D-cycloserine, an NMDA partial agonist, enhances cognitive performance following experimental brain injury. *Brain research*, 741(1-2), 246–251.

Testini, P., Zhao, C.Z., Stead, M., Duffy, P.S., Klassen, B.T., & Lee, K.H. (2016a). Centromedian-Parafascicular Complex Deep Brain Stimulation for Tourette Syndrome: A Retrospective Study. *Mayo Clinic Proceedings*, 91(2), 218-25.

Testini, P., Min, H.K., Bashir, A., & Lee, K.H. (2016b). Deep Brain Stimulation for Tourette's Syndrome: The Case for Targeting the Thalamic Centromedian-Parafascicular Complex. *Frontiers in Neurology*, 7, 193.

Thanos, P. K., Bermeo, C., Wang, G. J., & Volkow, N. D. (2009). D-cycloserine accelerates the extinction of cocaine-induced conditioned place preference in C57bL/c mice. *Behavioural brain research*, 199(2), 345– 349.

Thanos, P. K., Bermeo, C., Wang, G. J., & Volkow, N. D. (2011). D-cycloserine facilitates extinction of cocaine self-administration in rats. *Synapse*, 65(9), 938–44.

Thompson, L. T., Moskal, J. R., & Disterhoft, J. F. (1992). Hippocampus-dependent learning facilitated by a monoclonal antibody or D-cycloserine. *Nature*, 359(6396), 638–41.

Timmer, N.M., Metaxas, A., van der Stelt, I., Kluijtmans, L.A., van Berckel, B.N., & Verbeek, M.M. (2014). Cerebral level of vGlut1 is increased and level of glycine is decreased in TgSwDI mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 39(1), 89-101.

Torregrossa, M. M., Sanchez, H., & Taylor, J. R. (2010). D-cycloserine reduces the context specificity of pavlovian extinction of cocaine cues through actions in the nucleus accumbens. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(31), 10526–33.

Toth, I., Dietz, M., Peterlik, D., Huber, S. E., Fendt, M., Neumann, I. D., Flor, P. J., et al. (2012). Pharmacological interference with metabotropic glutamate receptor subtype 7 but not subtype 5 differentially affects within- and between-session extinction of Pavlovian conditioned fear. *Neuropharmacology*, 62(4), 1619–26.

Trask, S., Shipman, M.L., Green, J.T., & Bouton, M.E. (2017). Inactivation of the Prelimbic Cortex Attenuates Context-Dependent Operant Responding. *Journal of Neuroscience*, 37(9), 2317-1324.

Traynelis, S.F., Hartley, M., Heinemann, S.F., (1995). Control of proton sensitivity of the NMDAR by RNA splicing and polyamines. *Science* 268, 873e876.

Traynelis S. F., Wollmuth L. P., McBain C. J., Menniti F. S., Vance K. M., Ogden K. K., Hansen K. B., Yuan H., Myers S. J. and Dingledine R. (2010) Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol. Rev.* 62, 405–496.



- Trevlopoulou, A., Toulatzi, N., & Pitsikas, N. (2016). The nitric oxide donor sodium nitroprusside attenuates recognition memory deficits and social withdrawal produced by the NMDA receptor antagonist ketamine and induces anxiolytic-like behavior in rats. *Psychopharmacology*, 233(6), 1045-1054.
- Tronel, S., & Sara, S. J. (2002). Mapping of olfactory memory circuits: region-specific c-fos activation after odor-reward associative learning or after its retrieval. *Learning & Memory*, 9(3), 105-111.
- Tronel, S., & Sara, S. J. (2003). Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. *Journal of Neuroscience*, 23(13), 5472-5476.
- Tronel, S., Feenstra, M. G., & Sara, S. J. (2004). Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learning & Memory*, 11(4), 453-458.
- Tsai, G., Yang, P., Chung, L.-C., Lange, N., Coyle, J.T., (1998). D-serine added to anti-psychotics for the treatment of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 44, 1081e1089.
- Tsai GE, Falk WE, Gunther J, Coyle JT (1999) Improved cognition in Alzheimer's disease with short-term D-cycloserine treatment. *Am J Psychiatry* 156:467-469.
- Tsai, G., Lane, H.Y., Yang, P., Chong, M.Y., Lange, N., (2004). Glycine transporter I inhibitor, N-methylglycine (sarcosine), added to antipsychotics for treatment of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 55, 452e456.
- Tsukada, H., Nishiyama, S., Fukumoto, D., Sato, K., Kakiuchi, T., & Domino, E. F. (2005). Chronic NMDA antagonism impairs working memory, decreases extracellular dopamine, and increases D1 receptor binding in prefrontal cortex of conscious monkeys. *Neuropsychopharmacology*, 30(10), 1861-1869.
- Tsumori, T., Yokota, S., Lai, H., & Yasui, Y. (2000). Monosynaptic and disynaptic projections from the substantia nigra pars reticulata to the parafascicular thalamic nucleus in the rat. *Brain research*, 858(2), 429-435.
- Tsumori, T., Yokota, S., Ono, K., & Yasui, Y. (2002). Synaptic organization of GABAergic projections from the substantia nigra pars reticulata and the reticular thalamic nucleus to the parafascicular thalamic nucleus in the rat. *Brain research*, 957(2), 231-241.
- Turchi, J., & Sarter, M. (1997). Cortical acetylcholine and processing capacity: effects of cortical cholinergic deafferentation on crossmodal divided attention in rats. *Cognitive Brain Research*, 6(2), 147-158.
- Turi, Z., Mittner, M., Opitz, A., Popkes, M., Paulus, W., & Antal, A. (2015). Transcranial direct current stimulation over the left prefrontal cortex increases randomness of choice in instrumental learning. *Cortex*, 63, 145-54.
- Uddin, M.S., Mamu, A.A., Hossain, M.S., Akter, F., Iqbal, M.A., & Asaduzzaman, M. (2016). Exploring the Effects of *Phyllanthus emblica* L. on Cognitive Performance, Brain Antioxidant Markers and Acetylcholinesterase Activity in Rats: Promising Natural Gift for the Mitigation of Alzheimer's Disease. *Annals of Neurosciences*, 23(4), 218-229.
- Urbano M, Okwara L, Manser P, Hartmann K, Deutsch SI (2015) A trial of d-cycloserine to treat the social deficit in older adolescents and young adults with autism spectrum disorders. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 27:133-138.

- Valentim, S. J. R., Gontijo, A. V. L., Peres, M. D., de Melo Rodrigues, L. C., & Nakamura-Palacios, E. M. (2009). D 1 dopamine and NMDA receptors interactions in the medial prefrontal cortex: modulation of spatial working memory in rats. *Behavioural brain research*, 204(1), 124-128.
- Vales, K., Svoboda, J., Benkovicova, K., Bubenikova-Valesova, V., Stuchlik, A., (2010). The difference in effect of mGlu2/3 and mGlu5 receptor agonists on cognitive impairment induced by MK-801. *European Journal Pharmacology*, 639(1-3), 91-98.
- Vallade L., Hugonenq H. & Jude JP. (1959). Neurotoxicity of cycloserine; demonstration of its clinical & electroencephalographic manifestations from 30 French publications. *Presse Med*, 67 (4): 138-140.
- Vallée, M., Mayo, W., Darnaudery, M., Corpéchet, C., Young, J., Koehl, M., Le Moal, M., Baulieu, E.E., Robel, P., Simon, H., (1997). Neurosteroids: deficient cognitive performance in aged rats depends on low pregnenolone sulfate levels in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 94, 14865e14870.
- Van Beugen, B.J., Qiao, X., Simmons, D.H., De Zeeuw, C.I., & Handed, C. (2014). Enhanced AMPA receptor function promotes cerebellar long-term depression rather than potentiation. *Learning & Memory*, 21(12), 662-667.
- Van Berckel, B.N.M., Lipsch, C., Timp, S., Gispens-de Wied, C., Wynne, H., Van Ree, J.M., et al. (1997). Behavioral and neuroendocrine effects of the partial NMDA agonist D-Cycloserine in healthy subjects. *Neuro - psychopharmacology*, 16, No.5.
- Van Cauwenberghe, C., Van Broeckhoven, C., & Sleegers, K. (2015). The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genetics in Medicine*, 18(5), 421-430.
- Van Eden, C. G., & Buijs, R. M. (2000). Functional neuroanatomy of the prefrontal cortex: autonomic interactions. *Progress in brain research*, 126, 49-62.
- Van Eden, C. G., Lamme, V. A. F., & Uylings, H. B. M. (1992). Heterotopic Cortical Afferents to the Medial Prefrontal Cortex in the Rat. A Combined Retrograde and Anterograde Tracer Study. *The European journal of neuroscience*, 4(1), 77-97.
- Van Haaren, F., De Bruin, J.P.C., Heinsbroek, R.P.W., & Van De Poll, N.E. (1985). Delayed spatial response alteration: Effects of delayed-interval duration and lesions of the medial prefrontal cortex on response accuracy of male and female Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, 18(1), 41-49.
- Van Wingerden, M., Vinck, M., Tijms, V., Ferreira, I. R. S., Jonker, A. J., & Pennartz, C. M. a. (2012). NMDA receptors control cue-outcome selectivity and plasticity of orbitofrontal firing patterns during associative stimulus-reward learning. *Neuron*, 76(4), 813-25.
- Vandergriff, J., Huff, K., Bond, A., Lodge, D., (2001). Potentiation of responses to AMPA on central neurones by LY392098 and LY404187 in vivo. *Neuropharmacology* 40, 1003e1009.
- Varela, C. (2014). Thalamic neuromodulation and its implications for executive networks. *Frontiers in Neural Circuits*, 8(69).
- Vengeliene, V., Kiefer, F., & Spanagel, R. (2008). D-cycloserine facilitates extinction of conditioned alcohol-seeking behaviour in rats. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 43(6), 626-9.

Vercelli, A., Marini, G., & Tredici, G. (2003). Anatomical organization of the telencephalic connections of the parafascicular nucleus in adult and developing rats. *European Journal of Neuroscience*, 18(2), 275-289.

Verma, A., & Moghaddam, B. (1996). NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(1), 373-9.

Vertes, R. P. (1991). A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 313(4), 643-668.

Vertes, R. P. (2002). Analysis of projections from the medial prefrontal cortex to the thalamus in the rat, with emphasis on nucleus reuniens. *Journal of Comparative Neurology*, 442(2), 163-187.

Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, 51(1), 32-58.

Vervliet, B. (2008). Learning and memory in conditioned fear extinction: effects of D-cycloserine. *Acta Psychologica*, 127(3), 601-613.

Vila-Verde, C., Marinho, A.L.Z., Lisboa, S.F., & Guimarães, F.S. (2016) Nitric oxide in the prelimbic medial prefrontal cortex is involved in the anxiogenic-like effect induced by acute restraint stress in rats. *Neuroscience*, 320, 30-42.

Villalba, R.M., Wichmann, T., & Smith, Y. (2014). Neuronal loss in the caudal intralaminar thalamic nuclei in a primate model of Parkinson's disease. *Brain structure & function*, 219(1), 381-94.

Villarejo-Rodríguez, I., Vale-Martínez, A., Guillazo-Blanch, G., Martí-Nicolóvius, M., Villarejo-Rodríguez, I., Vale-Martínez, A., & Martí-Nicolóvius, M. (2010). D-cycloserine in prelimbic cortex enhances relearning of an odor-reward associative task. *Behavioural brain research*, 238, 289-92.

Villarejo-Rodríguez, I., Boadas-Vaello, P., Portero, M., Vale-Martínez, A., Martí-Nicolóvius, M., & Guillazo-Blanch, G. (2013). Learning deficits in an odor reward-task induced by parafascicular thalamic lesions are ameliorated by pretraining d-cycloserine in the prelimbic cortex. *Behavioural Brain Research*, 1-4.

Vinson, P. N., & Conn, P. J. (2012). Metabotropic glutamate receptors as therapeutic targets for schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3), 1461-72.

Vurbic, D., Gold, B., & Bouton, M. E. (2011). Effects of D-cycloserine on the extinction of appetitive operant learning. *Behavioral neuroscience*, 125(4), 551-559.

Waddell, J., Mallimo, E., & Shors, T. (2010). D-Cycloserine Reverses the Detrimental Effects of Stress on Learning in Females and Enhances Retention in Males. *Neurobiology of learning and memory*, 93(1), 31- 6.

Wafford, K.A., Kathoria, M., Bain, C.J., Marshall, G., Le Bourdellès, B., Kemp, J.A., Whiting, P.J., (1995). Identification of amino acids in the N-methyl-D-aspartate receptor NR1 subunit that contribute to the glycine binding site. *Mol. Pharmacol.* 47, 374e380.

Wakade, C., Sukumari-Ramesh, S., Laird, M.D., Dhandapani, K.M., & Vender, J.R. (2010). Delayed reduction in hippocampal postsynaptic density protein-95 expression temporally correlates with cognitive dysfunction following controlled cortical impact in mice. *Journal of Neurosurgery*, 113(6), 1195-1201.

- Walker, A.G., Wenthur, C.J., Xiang, Z., Rook, J.M., Emmitte, K.A., Niswender, C.M., Lindsley, C.W., & Conn, P.J. (2015). Metabotropic glutamate receptor 3 activation is required for long-term depression in medial prefrontal cortex and fear extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(4), 1196-1201.
- Walker WC. & Murdoch JM. (1957) Cycloserine in the treatment of pulmonary tuberculosis; a report on toxicity. *Tubercle*, 38 (5): 297-302.
- Walker, D L, Ressler, K. J., Lu, K. T., & Davis, M. (2002). Facilitation of conditioned fear extinction by systemic administration or intra-amygdala infusions of D-cycloserine as assessed with fear-potentiated startle in rats. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(6), 2343-2351.
- Wang, J.P., & Guo, Z. (2009). Propofol suppresses activation of nociception specific neuron in the parafascicular nucleus of the thalamus evoked by coronary artery occlusion in rats. *European Journal Anaesthesiology*, 26, 60-65.
- Wang, M., Qu, Q., He, T., Li, M., Song, Z., Chen, F., Zhang, X., Xie, J., Geng, X., Yang, M., Wang, X., Lei, C., & Hou, Y. (2016). Distinct temporal spike and local field potential activities in the thalamic parafascicular nucleus of parkinsonian rats during rest and limb movement. *Neuroscience*, 330, 57-71.
- Wang, M., Yang, Y., Wang, C.-J., Gamo, N. J., Jin, L. E., Mazer, J. a, Morrison, J. H., et al. (2013). NMDA receptors subserve persistent neuronal firing during working memory in dorsolateral prefrontal cortex. *Neuron*, 77(4), 736-49.
- Wang, Q., Jin, J., & Maren, S. (2016). Renewal of extinguished fear activates ventral hippocampal neurons projecting to the prelimbic and infralimbic cortices in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 134 (A), 38-43.
- Warthen, D.M., Lambeth, P.S., Ottolini, M., Shi, Y., Barker, B.S., Gaykema, R.P., Newmyer, B.A., Joy-Gaba, J., Ohmura, Y., Perez-Reyes, E., Güler, A.D., Patel, M.K., & Scott, M.M. (2016). Activation of Pyramidal Neurons in Mouse Medial Prefrontal Cortex Enhances Food-Seeking Behavior While Reducing Impulsivity in the Absence of an Effect on Food Intake. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10, 63.
- Watanabe, Y., Saito, H., Abe, K., (1992). Effects of glycine and structurally related amino acids on generation of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Eur. J. Pharmacol.* 223, 179e184.
- Watson, R. T., & Heilman, K. M. (1979). Thalamic neglect. *Neurology*, 29(5), 690-690.
- Watson, D. J., & Stanton, M. E. (2009). Intrahippocampal administration of an NMDA-receptor antagonist impairs spatial discrimination reversal learning in weanling rats. *Neurobiology of learning and memory*, 92(1), 89-98.
- Watson, R. T., Valenstein, E., & Heilman, K. M. (1981). Thalamic neglect: possible role of the medial thalamus and nucleus reticularis in behavior. *Archives of Neurology*, 38(8), 501-506.
- Watson, B. J., Wilson, S., Griffin, L., Kalk, N. J., Taylor, L. G., Munafò, M. R., Lingford-Hughes, a. R., et al. (2011). A pilot study of the effectiveness of d-cycloserine during cue-exposure therapy in abstinent alcohol-dependent subjects. *Psychopharmacology*, 216(1), 121-129.
- Weber, M., Hart, J., & Richardson, R. (2007). Effects of D-cycloserine on extinction of learned fear to an olfactory cue. *Neurobiology of learning and memory*, 87(4), 476-82.

- Wenk, G. L. (1997). The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: one hundred years of progress. *Neurobiology of learning and memory*, 67(2), 85-95.
- Wenk, G L, & Barnes, C. A. (2000). Regional changes in the hippocampal density of AMPA and NMDA receptors across the lifespan of the rat. *Brain research*, 885(1), 1-5.
- Wierońska, J.M., Kłeczek, N., Woźniak, M., Gruca, P., Łasoń-Tyburkiewicz, M., Papp, M., Brański, P., Burnat, G., & Pilc, A. (2015). mGlu<sub>5</sub>-GABAB interplay in animal models of positive, negative and cognitive symptoms of schizophrenia. *Neurochemistry International*, 88, 97-109.
- Win-Shwe, T.-T., Kageyama, S., Tsukahara, S., Nakajima, D., & Fujimaki, H. (2010). Effect of D-cycloserine on spatial learning performance and memory function-related gene expression in mice following toluene exposure. *Journal of UOEH*, 32(2), 127-40.
- Williams, K., (1994a). Mechanisms influencing stimulatory effects of spermine at recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol. Pharmacol.* 46, 161e168.
- Williams, K., (1994b). Subunit-specific potentiation of recombinant N-methyl-D- aspartate receptors by histamine. *Mol. Pharmacol.* 46, 531e541.
- Williams, K., (1997). Interactions of polyamines with ion channels. *Biochem. J.* 325, 289e297.
- Williams, J. M., Mohler, E. G., & Givens, B. (1999). The role of the medial prefrontal cortex in attention: Altering predictability of task difficulty. *Psychobiology*, 27(4), 462-469.
- Wischhof, L., & Kock, M. (2016). 5-HT<sub>2A</sub> and mGlu<sub>2/3</sub> receptor interactions: on their relevance to cognitive function and psychosis. *Behavioural pharmacology*, 27(1), 1-11.
- Wisłowska-Stanek, A., Lehner, M., Skórzewska, A., Maciejak, P., Szyndler, J., Turzyńska, D., Sobolewska, A., et al. (2011). Effects of D-cycloserine and midazolam on the expression of the GABA-A alpha-2 receptor subunits in brain structures of fear conditioned rats. *Behavioural brain research*, 225(2), 655-9.
- Woods, A. M., & Bouton, M. E. (2006). D-cycloserine facilitates extinction but does not eliminate renewal of the conditioned emotional response. *Behavioral neuroscience*, 120(5), 1159-62.
- Woolf, N. J. (1991). Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Progress in neurobiology*, 37(6), 475-524.
- Woolf, N. J., & Butcher, L. L. (1986). Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain research bulletin*, 16(5), 603-637.
- Wu, S.-L., Hsu, L.-S., Tu, W.-T., Wang, W.-F., Huang, Y.-T., Pawlak, C. R., & Ho, Y.-J. (2008). Effects of D- cycloserine on the behavior and ERK activity in the amygdala: role of individual anxiety levels. *Behavioural brain research*, 187(2), 246-53.
- Xie, M., Li, C., He, C., Yang, L., Tan, G., Yan, J., Wang, J. & Hu, Z. (2016). Short-term sleep deprivation disrupts the molecular composition of ionotropic glutamate receptors in entorhinal cortex and impairs the rat spatial reference memory. *Behavioural Brain Research*, 300, 70-76.
- Yadav, R., Gupta, S. C., Hillman, B. G., Bhatt, J. M., Stairs, D. J., & Dravid, S. M. (2012). Deletion of glutamate delta-1 receptor in mouse leads to aberrant emotional and social behaviors. *PloS one*, 7(3), e32969.

- Yadav, R., Hillman, B. G., Gupta, S. C., Suryavanshi, P., Bhatt, J. M., Pavuluri, R., Stairs, D. J., et al. (2013). Deletion of glutamate delta-1 receptor in mouse leads to enhanced working memory and deficit in fear conditioning. *PLoS one*, 8(4), e60785.
- Yaka, R., Biegon, A., Grigoriadis, N., Simeonidou, C., Grigoriadis, S., Alexandrovich, A. G., Matzner, H., et al. (2007). D-cycloserine improves functional recovery and reinstates long-term potentiation (LTP) in a mouse model of closed head injury. *The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(9), 2033–41.
- Yamada, D., Zushida, K., Wada, K., & Sekiguchi, M. (2009). Pharmacological discrimination of extinction and reconsolidation of contextual fear memory by a potentiator of AMPA receptors. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(12), 2574–2584.
- Yamanaka, K., Hori, Y., Minamimoto, T., Yamada, H., Matsumoto, N., Enomoto, K., ... & Kimura, M. (2017). Roles of centromedian parafascicular nuclei of thalamus and cholinergic interneurons in the dorsal striatum in associative learning of environmental events. *Journal of Neural Transmission*, 1-13.
- Yamamoto, S., Morinobu, S., Fuchikami, M., Kurata, A., Kozuru, T., & Yamawaki, S. (2008). Effects of single prolonged stress and D-cycloserine on contextual fear extinction and hippocampal NMDA receptor expression in a rat model of PTSD. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(9), 2108–2116.
- Yan, W.W., Yao, L.H., Chen, C., Wang, H.X., Li, C.H., Huang, J.N., Xiao, P., & Liu, C.Y. (2015). Effects of Modafinil on Behavioral Learning and Hippocampal Synaptic Transmission in Rats. *International Neurology Journal*, 19(4), 220-227.
- Yang, Y. L., Chao, P. K., Ro, L. S., Wo, Y. Y., & Lu, K. T. (2007). Glutamate NMDA receptors within the amygdala participate in the modulatory effect of glucocorticoids on extinction of conditioned fear in rats. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 32(5), 1042–1051.
- Yang, Y., Ge, W., Chen, Y., Zhang, Z., Shen, W., Wu, C., Poo, M., Duan, S., (2003). Contribution of astrocytes to hippocampal long-term potentiation through release of D-serine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100, 15194e15199.
- Yang, S., Qiao, H., Wen, L., Zhou, W., Zhang, Y., (2005). D-serine enhances impaired long-term potentiation in CA1 subfield of hippocampal slices from aged senescence-accelerated mouse prone/8. *Neurosci. Lett.* 379, 7e12
- Yasuda, K., Hayashi, Y., Yoshida, T., Kashiwagi, M., Nakagawa, N., Michikawa, T., Tanaka, M., Ando, R., Haug, A., Hosoya, T., McHugh, T.J., Kuwahara, M., & Itohara, S. (2017). Schizophrenia-like phenotypes in mice with NMDA receptor ablation in intralaminar thalamic nucleus cell and gene therapy-based reversal in adults. *Translational Psychiatry*, 7(2), e1047.
- Yasukawa, T., Kita, T., Xue, Y., & Kita, H. (2004). Rat intralaminar thalamic nuclei projections to the globus pallidus: a biotinylated dextran amine anterograde tracing study. *Journal of Comparative Neurology*, 471(2), 153-167.
- Zahm, D. S. (1999). Functional-anatomical implications of the nucleus accumbens core and shell subterritories. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877(1), 113-128.
- Zahm, D. S., & Brog, J. S. (1992). On the significance of subterritories in the “accumbens” part of the rat ventral striatum. *Neuroscience*, 50(4), 751-767.

Zahrt, J., Taylor, J.R., Mathew, R.G., & Arnsten, A.F.T. (1997). Supranormal Stimulation of D1 Dopamine Receptors in the Rodent Prefrontal Cortex Impairs Spatial Working Memory Performance. *Journal of Neuroscience*, 17(21), 8528-8535.

Zakharov, D., Lapish, C., Gutkin, B., & Kuznetsov, A. (2016). Synergy of AMPA and NMDA Receptor Currents in Dopaminergic Neurons: A Modeling Study. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 10, 48.

Zajackowski, W., & Danysz, W. (1997). Effects of D-cycloserine and aniracetam on spatial learning in rats with entorhinal cortex lesions. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 56(1), 21–9.

Zanos, P., Moadel, R., Morris, P.J., et al. (2016). NMDAR inhibition-independent antidepressant actions of ketamine metabolites. *Nature*, 533, 481-486.

Zhang, R. X., Mi, Z. P., Xie, Y. F., & Qiao, J. T. (1992). Serotonergic, noradrenergic and galaninergic projections to the nucleus parafascicularis. *NeuroReport*, 3(2), 135-138.

Zhou, H.X., & Wollmuth, L.P. (2017). Advancing NMDA Receptor Physiology by Integrating Multiple Approaches. *Trends in Neuroscience*.

Zimmerman, J. M., & Maren, S. (2010). NMDA receptor antagonism in the basolateral but not central amygdala blocks the extinction of Pavlovian fear conditioning in rats. *The European journal of neuroscience*, 31(9), 1664–70.

Zlomuzica, A., De Souza Silva, M. a, Huston, J. P., & Dere, E. (2007). NMDA receptor modulation by D- cycloserine promotes episodic-like memory in mice. *Psychopharmacology*, 193(4), 503–9.

