

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ

*NEUROMODULAREA CEREBELOASĂ A
CIRCUITELOR IMPLICATE ÎN REGLAREA
EMOȚIONALĂ*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ZĂGREAN LEON

Student-doctorand:

GEORGESCU IOANA-ANTOANETA

2020

Cuprins

Introducere.....	8
PARTEA GENERALĂ.....	14
I.1. Neurofiziologia fricii și a comportamentului.....	14
1.1.Reglarea comportamentului.....	15
1.2. Reglarea neurotransmițătorilor emoțiilor negative pornind din trunchiul cerebral.....	22
1.3. Amigdala ca centru al fricii.....	25
1.4. Frica – un sistem emoțional.....	27
1.5. Condiționarea Pavloviană.....	28
1.6. Măsurarea nivelului de frică.....	29
I.2.Tulburări cognitive și afective asociate cu disfuncția circuitelor cerebelo-limbic-prefrontale.....	31
I.3. Anatomia funcțională a structurilor implicate în reglarea emoțională.....	37
3.1. Cortexul prefrontal medial.....	37
3.2. Introducere în organizarea și complexitatea funcțională a talamusului mediodorsal.....	39
3.3. Arhitectura talamusului.....	41
3.4. Relația talamusului mediodorsal cu cortexul prefrontal.....	42
3.5. Relația talamusului mediodorsal cu regiunile mediale temporale.....	46
3.6. Relația talamusului mediodorsal cu structurile subcorticale.....	47
3.7. Relația cerebelului cu talamusul mediodorsal.....	50
3.8. Citoarhitectura talamusului mediodorsal.....	52
3.9. Răspunsuri electrofiziologice ale talamusului mediodorsal în relație cu ariile limbice.....	54
3.10. Neuromodularea talamusului mediodorsal.....	58
3.11. Considerații finale talamus mediodorsal.....	60
II. PARTEA SPECIALĂ.....	61
II.4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	61
II.5. Metodologia generală a cercetării.....	63
5.1. Animale.....	63
5.2. Conectori.....	64
5.3. Chirurgie.....	65

5.4. Optogenetică.....	69
5.5. Electrofiziologie.....	74
5.5.1. Înregistrări extracelulare unicelulare in vivo.....	74
5.5.2. Înregistrări extracelulare pluricelulare in vivo – potențiale de câmp local.....	78
5.6. Chemogenetică.....	79
5.7. Comportament.....	81
II.6. Proiecțiile cerebeloase către talamusul mediodorsal controlează dispariția fricii.....	88
6.1. Introducere.....	88
6.2. Materiale și metode.....	92
6.3. Rezultate.....	101
6.4. Discuții.....	125
6.5. Concluzii.....	129
II.7. Controlul bidirecțional al fricii prin neuronii cerebeloși care proiectează la substanța gri periapeductală.....	130
7.1. Introducere.....	130
7.2. Materiale și metode.....	132
7.3. Rezultate.....	136
7.4. Discuții.....	150
7.5. Concluzii.....	152
II.8. Disfuncția cerebelului induce perturbarea activității oscilatorii corticale.....	153
8.1. Introducere.....	153
8.2. Materiale și metode.....	155
8.3. Rezultate.....	158
8.4. Discuții.....	164
8.5. Concluzii.....	166
9. Concluzii și considerații personale.....	167
Bibliografie.....	173
Lista cu lucrările științifice publicate în perioada studiilor doctorale.....	201
Anexe.....	202
Anexa 1 – Statistica.....	202
Anexa 2 – Copii ale distincțiilor, diplomelor, dovezi de participare la conferințe și copii ale lucrărilor științifice proprii.....	232

PARTEA GENERALĂ

Deși anxietatea și prezența fricilor sunt parte din existența umană, atunci când sentimentul de pericol este foarte intens, copleșitor și persistent, tulburările de anxietate pot apărea. Tulburările de anxietate, ce cuprind anxietatea generalizată, anxietatea socială, anxietatea de separare, tulburarea de panică, agorafobia sau fobiile specifice au devenit în secolul 21 cele mai prevalente tulburări mentale, aproximativ 33.7% din populația lumii fiind afectată de o tulburare de acest tip pe parcursul vieții lor (Bandelow & Michaelis, 2015). Atunci când sunt axate pe un obiect sau eveniment specific, aceste manifestări sunt descrise ca frică.

Frica este o emoție universală, conservată în evoluția oamenilor și a speciilor animale. De altfel, am putea afirma că frica este chiar benefică supraviețuirii pentru că, fără aceasta, animalele nu s-ar putea apăra de prădători, iar oamenii nu ar putea recunoaște și evita situațiile primejdioase.

Frica este o emoție care duce la răspunsuri comportamentale diferite, care pot fi întâlnite și schematizate în lumea animală prin triada „freeze, fight, flight”, adică „înghețare, luptă, zbor”, ce reprezintă fie o inhibare a mișcărilor (freezing sau înghețare), fie o reacție de luptă sau apărare (fight), fie o reacție de zbor ori fugă în fața prădătorului sau oricărei situații amenințătoare. Reglarea fricii este așadar esențială pentru a permite o bună adaptare la mediu. Studiile au identificat numeroase mecanisme prin care se realizează controlul răspunsurilor afective negative. Acestea pot fi mecanisme ale sistemelor cognitive și comportamentale influențate de sistemul nervos autonom. Se consideră astfel că oamenii pot, teoretic, să își moduleze reacțiile în situațiile percepute ca amenințătoare (Diekhof et al., 2011)(Saper & Stornetta, 2015)(Wilcox et al., 2016). La oameni există numeroase tulburări psihiatrice, cum ar fi depresia, anxietatea sau tulburările de stres post-traumatic, atribuite reglării slabe a emoțiilor.

Din păcate, tulburările de acest tip implică adesea costuri foarte ridicate pentru sistemul de sănătate și pentru economie fiindcă creează un grad ridicat de nefuncționalitate pentru individul afectat. Tulburările de anxietate necesită o atenție deosebită din partea personalului medical, fiind adesea comorbide cu alte tulburări organice sau psihiatrice, iar recuperarea acestor pacienți va fi rapidă și completă numai în prezența unei echipe interdisciplinare. Deși această patologie a fost descrisă cu secole în urmă (Burton, 1621), aceste tulburări au devenit

caracteristice timpurile moderne, îngrijorările și fricile crescând odată cu anumite regimuri politice, sociale, economice și diverse alte schimbări de mediu la care omul a fost supus. Desigur, există anumite diferențe între populații, care apar ca urmare a variabilității biologice existente între grupurile etnice, a diferențelor culturale și psihosociale și factorilor traumatici existenți la anumite națiuni sau grupuri etnice, spre exemplu războaie, sărăcie, defavorizarea minorităților sau chiar dezastrele naturale.

Studii recente au relevat faptul că mai mult de 70% din adulții din întreaga lume experimentează un eveniment traumatic la un moment dat în viața lor, iar aproape jumătate din aceștia experimentează patru sau mai multe astfel de evenimente (Benjet et al., 2016). Printre trăsăturile celor care au suferit un astfel de eveniment amintim reacțiile intense, dureroase, de frică și de evitare a evenimentelor sau stimulilor care au declanșat amintiri neplăcute. Pot apărea și alterarea stării de spirit și tulburări cognitive, iar dacă frica este foarte intensă și sentimentul unui pericol iminent persistă, pot apărea chiar tulburări de somn și hipervigilență (Shalev et al., 2017).

În ultima perioadă, tot mai multe date indică participarea cerebelului în procesele emoționale (P. Strata et al., 2011)(Piergiorgio Strata, 2015a). Ipoteza acestui studiu este aceea că cerebelul neuromodulează activitatea unor structuri aparținând sistemului limbic și participă la reglarea emoțională, achiziția și extincția fricii. Obiectivele principale ale studiului au fost descrierea legăturii nucleu fastigial (al cerebelului) – talamus mediodorsal – cortex prefrontal (infralimbic și prelimbic) în învățarea și extincția fricii, legăturii nucleu fastigial-substanță gri periaeductală ventro-laterală în achiziția fricii, precum și a modului în care activitatea oscilatorie corticală se modifică atunci când funcția cerebelului este afectată.

Modelele animale clasice destinate studiului fricii implică experimente de condiționare a fricii ce creează reacții de tip Pavlovian, care constau în a învăța animalul să asocieze un stimul condiționat neutru (cum ar fi un sunet), cu un stimul necondiționat nociv, aversiv (cum ar fi un șoc electric). Pentru aceasta, acești doi stimuli sunt prezentați animalului simultan și repetitiv. Astfel, după învățarea asocierii, răspunsul la frică va putea fi declanșat prin simpla prezentare a stimulului condiționat (Pavlov, 1927). Cu toate acestea, după aplicarea unei serii de stimuli sonori, fără aplicarea simultană a șocului electric, este posibilă diminuarea sau sistarea răspunsului de frică anterior condiționat, fenomen ce se numește extincția fricii sau achiziția memoriei de extincție a fricii. De asemenea, faptul că este posibil ca după un interval de timp (după dispariția sa) să se recupereze răspunsul de frică („freezingul”), arată că

amintirea fricii nu este ștearsă, ci procesul implică o nouă învățare, aceea că stimulul auditiv nu mai atrage după sine un stimul aversiv sau dureros (Myers & Davis, 2007). Utilitatea acestui model de frică condiționată, învățată (ci nu înnăscută) este aceea că este ușor de realizat în practică, iar rezultatele sunt reproductibile: condiționarea durează doar o zi, iar extincția (dispariția) poate fi antrenată începând cu ziua următoare condiționării. Mai mult, la șoarece, răspunsul la frică poate fi ușor studiat prin măsurarea ratei de „înghețare” sau de „freezing”, adică a timpului (ca procent din timpul total) în care animalul este imobil, exceptând mișcările de respirație, toracice sau abdominale. În studiul nostru, am utilizat protocoale Pavloviene clasice de condiționare și extincție a fricii, în care stimulul condiționat a fost un stimul auditiv (un ton specific), iar stimulul necondiționat a fost un șoc electric de intensitate scăzută, însă suficient de puternic pentru a cauza senzații neplăcute.

În literatura de specialitate, diferite structuri au fost identificate ca având un rol în achiziția fricii condiționate sau a extincției acesteia. Acestea includ amigdala, hipocampusul și cortexul prefrontal medial (mPFC) (Tovote et al., 2015). Amigdala a fost prima structură identificată ca având rol în frică, iar numeroase studii au arătat că lezarea amigdalei împiedică dobândirea (achiziția) și exprimarea fricii condiționate (LeDoux, 2003). Circuitele conectate cu amigdala permit totuși explicarea mecanismelor prin care se realizează învățarea modulării răspunsului condiționat de frică, cu alte cuvinte, a dispariției fricii. Este important de menționat că o anumită regiune cerebrală, mai precis cortexul prefrontal medial, care conține cortexul prelimbic (PL) și infralimbic (IL), pare să joace un rol-cheie în extincția fricii (Bloodgood et al., 2018). Datele din literatură sugerează că PL și IL au efecte opuse: inactivarea PL scade freezingul, în timp ce extincția rămâne intactă, iar inactivarea IL inhibă achiziția extincției (Vidal-Gonzalez et al., 2006)(Sierra-Mercado et al., 2011). Acest lucru sugerează că PL joacă mai degrabă un rol în exprimarea fricii, în timp ce IL este implicat în dispariția sa (Sierra-Mercado et al., 2011). mPFC este strâns conectat cu nucleul mediodorsal al talamusului (MD), cu care realizează conexiuni bidirecționale (Parnaudeau et al., 2018).

Acest lucru sugerează că MD are, de asemenea, un loc important în comportamentul de frică, ceea ce se datorează în special faptului că este strâns legat de sistemul limbic, care este bine cunoscut ca având rolul principal în exprimarea și reglarea emoțiilor. Împreună cu nucleul anterior și cel dorsolateral ale talamusului, MD face parte dintr-un grup de nuclee talamice denumite „talamusul limbic” (Taber et al., 2004). Rolul său în răspunsul la frică a fost identificat mai specific: leziunile la nivelul MD diminuează freezingul condiționat, însă nu pe cel apărut imediat după o stimularea electrică (Lee et al., 2012). Acest lucru arată că MD este

probabil implicat în dobândirea, consolidarea sau recuperarea amintirii în condiții de frică. Studiile privitoare la neuronii dintre MD și mPFC (ce realizează legătura talamo-corticală) au identificat două profiluri de descărcare a acestora: hiperpolarizarea neuronilor din MD duce la activarea fazică sub formă de "bursturi", în timp ce depolarizarea duce la o activare tonică. Inactivarea căii de semnalizare declanșată de receptorii glutamatergici ai acestor neuroni a permis studierea funcției fiecărui profil de descărcare. Cercetătorii au observat că, atunci când activarea este tonică – așa cum se întâmplă în condiții fiziologice, extincția este facilitată, în timp ce atunci când activarea este fazică, dispariția fricii este inhibată (Lee et al., 2012). În consecință MD pare să aibă un rol crucial în modularea diminuării răspunsului la frică, în special în relația cu IL și PL.

Substanța gri periaeductală ventrolaterală (vlPAG) este cunoscută în a avea un rol în medierea comportamentului, atât în cazul fricii învățate, cât și celei înnăscute, prin intermediul proiecțiilor excitatorii spre nucleul magnocelular. În frica învățată, recrutarea acestor neuroni este produsă de o dezinhibiție produsă de aferențele GABAergice de la amigdală (în frica asociată unui stimul) sau de aferențele glutamatergice provenite de la cortexul medial prefrontal (în frica învățată într-un context anume). Așadar, vlPAG pare a nu fi doar un simplu reglator al funcțiilor senzoriale și motorii, ci o structură implicată în învățarea fricii prin generarea unei predicții ce evaluează iminența unui stimul nociv viitor. Numeroase studii au arătat conectivitatea funcțională a cerebelului cu diverse structuri asociate cu învățarea și expresia fricii, cum ar fi PAG, amigdală și cortexul prefrontal, iar rezultatele echipei au arătat de asemenea că neuronii din FN proiectează la substanța gri periaeductală. Mai mult, există deja evidența faptului că învățarea fricii printr-o reacție Pavloviană afectează plasticitatea cerebelului, că inactivarea cerebelului post-condiționare la frică afectează consolidarea memoriei, iar lezarea sau inactivarea cerebelului modifică comportamentul în situațiile în care animalele simt frica. În orice caz, căile prin care cerebelul participă la învățarea și expresia fricii sunt imprecis descrise. Cunoscându-se că vermisul cerebelos este zona cel mai des asociată cu patologii emoționale și expresia fricii, am decis studierea contribuției nucleului fastigial în învățarea acesteia. Utilizând mapări neuroanatomice, modulări chemogenetice ale eferențelor cerebeloase spre PAG în timpul condiționării la frică, precum și stimulări optogenetice în timpul înregistrării activității extracelulare a neuronilor animalelor aflate în liberă mișcare, am demonstrat contribuția cerebelului în achiziția fricii, realizată prin intermediul vlPAG.

Partea finală a studiului a cuprins cercetarea efectului pe care îl are cerebelul asupra activității oscilatorii corticale. Înregistrarea electrocorticografică a cortexului motor și cortexului parietal în timpul perturbării eferențelor cerebeloase a demonstrat contribuția circuitului cerebelo-talamo-cortical în menținerea sincronității rețelelor corticale. Acest studiu a demonstrat creșteri ale densității puterii spectrale în benzile de frecvență înaltă în ultimele zile de experiment pentru cortexul motor și parietal și scăderi inițiale ale coerențelor intra și interemisferice, care au fost compensate spre final, sugerând apariția unor fenomene de adaptare a activității corticale la o disfuncție cerebeloasă.

Din ce în ce mai multe elemente converg către identificarea unui rol al cerebelului în modularea emoțiilor. La om, datele generate de tomografia cu emisie de pozitroni au arătat că, atunci când subiecții își reamintesc emoții negative cum ar fi frica, tristețea sau furia, vermisul cerebelos este activat (Damasio et al., 2000). În plus, diverse tulburări ale afectului au fost identificate în sindroame care implică leziuni ale vermisului sau ale nucleului fastigial (FN) al cerebelului. Aceste tulburări au fost mai târziu definite ca aparținând sindromului cerebelos cognitiv-afectiv (Schmahmann & Sherman, 1998). La animale, inactivarea vermisului cerebelos scade semnificativ răspunsurile de frică, cum ar fi „freezingul” șobolanilor în prezența unei pisici (Sacchetti et al., 2005).

Supraviețuirea se bazează pe găsirea unui echilibru între comportamentele de evitare sau cele de abordare a unei provocări găsite în mediul înconjurător. De-a lungul timpului, atât animalele, cât și oamenii au trebuit să interacționeze cu foarte multe elemente din mediul natural, astfel încât să își asigure nevoile biologice într-un mediu sigur, fără a-și pune în pericol viața (Ikemoto, 2019).

Percepția umană și animală a emoțiilor sugerează că sentimentele pozitive sau negative modifică foarte mult comportamentul, astfel încât să facă supraviețuirea mai ușoară și să maximizeze totodată evoluția speciilor. Emoțiile pozitive stimulează comportamentele sociale, care sunt benefice pentru reproducerea speciei, iar cele negative determină apariția unor reacții defensive, necesare pentru supraviețuire.

Controlul emoțional este absolut esențial pentru sănătatea mintală. Această afirmație este dovedită de apariția tulburărilor psihiatrice atunci când reglarea emoțională nu este suficientă. Frecvent, apare depresia, însoțită de anxietate (Aldao et al., 2010). Indivizii afectați prezintă deficiențe neurale în regiunile asociate cu cogniția, cum ar fi cortexul medial

prefrontal. Interesant este că indivizii depresivi tind să creadă că evenimentele pozitive din viața lor au apărut datorită unor factori externi, iar evenimentele negative le atribuie propriei insuficiențe, ceea ce indică faptul că o strategie potrivită pentru reglarea emoțională ar fi modificarea modului prin care se atribuie vina pentru un anumit eveniment nefericit (Loeffler et al., 2018). Aceste atribuiri cauzale spontane sunt procesate în regiunile cerebrale mediale.

Rețeaua de reglare a emoțiilor prin intermediul cogniției este antrenată atunci când indivizii schimbă voluntar, intenționat, modul în care se gândesc la o anumită situație, iar această rețea cuprinde cortexul prefrontal dorsolateral și ventrolateral, cortexul cingulat antero-medial, cortexul temporal, cortexul parietal și chiar aria premotorie suplimentară, atunci când reglarea este inițiată de zonele frontale. Zonele parietale, inclusiv girusul angular și precuneusul colaborează cu regiunile temporale și limbice în reglarea emoțiilor (Kohn et al., 2014), iar pacienții cu depresie recrutează adesea inadecvat aceste regiuni (Beauregard et al., 2006)(Rive et al., 2013). Adesea la acești pacienți apare o comunicare inadecvată, perturbată, între rețelele frontoparietale, care exercită un control cognitiv al atenției și al reglării emoționale, dar și în rețelele frontoparietale și regiunile parietale responsabile de atenția acordată mediului exterior (Kaiser et al., 2015). Tot Kaiser și colaboratorii au arătat existența unei hiperconectivități în rețeaua despre care se crede că susține gândurile orientate spre sine, care este la rândul ei hiperconectată cu rețeaua de control frontoparietală anterior menționată. Tot în depresie s-a observat o hipoconectivitate între sistemele neuronale implicate în procesarea emoției și regiuni corticale apropiate de linia mediană care pot media reglarea de sus în jos a acestor funcții, adică reglarea de la centrii superiori la centrii inferiori, subcorticali.

Toate aceste date sugerează că o conectivitate neechilibrată în rețelele subcortico-corticale poate afecta modul în care gândurile se raportează la lumea exterioară. Controlul cognitiv scade astfel, scăzând procesarea emoțională și generând dispoziții instabile și tulburări psihice sau psihiatrice. Acesta reprezintă unul din modelele neurocognitive care explică modul în care disfuncțiile de rețea determină apariția unor tulburări cognitiv-afective (Kaiser et al., 2015).

De-a lungul timpului, numeroase studii au indicat cortexul prefrontal medial ca având un rol foarte important în reglarea stării afective și a comportamentului emoțional chiar și la animale (Dixon et al., 2017). Unii autori consideră că această regiune este situată strategic între două sisteme care organizează activitatea corticală atunci când comportamentul trebuie adecvat la mediu (Phillips et al., 2003) și care s-au diferențiat odată cu evoluția neocortexului

(Sanides, 1970). Sistemul ventrolateral provine din arhicortex (cortex olfactiv), este bazat pe reactivitatea la stimul și operează prin feedback. Aceste arii corticale prefrontale ventrolaterale participă nu numai la elaborarea unui răspuns la stimulul emoțional administrat, dar și la reglarea comportamentală emoțională care apare în mod automat și inconștient. Această funcție este îndeplinită prin intermediul conexiunilor directe și indirecte cu numeroase structuri subcorticale, printre care hipotalamusul, talamusul, amigdala, striatumul ventral și nucleeele din trunchiul cerebral (Kaufman et al., 2000).

Un alt sistem operează la nivel mediodorsal și este bazat pe planificare. Sistemul funcționează printr-un mecanism de „feed-forward”, adică printr-un mecanism care se adaptează continuu la procese folosindu-se de raționamente care intuiesc, anticipează rezultatele sau efectele, în funcție de ceea ce s-a întâmplat anterior. Acest sistem este derivat din paleocortex și cuprinde hipocampul. Această structură, fundamentală pentru evoluție și supraviețuire, a fost implicată în inhibarea răspunsului la stres prin intermediul unor conexiuni inhibitorii cu multiple structuri subcorticale, la rândul lor antrenate și activate în răspunsul la stres (López et al., 1999).

Emoțiile negative determină oamenii și animalele să acționeze într-un mod defensiv, necesar pentru supraviețuire. Pericolul le sensibilizează pe animale atât de mult încât le induce o stare care le pregătește să se lupte pentru viață. În acele momente, animalele folosesc tot ce au învățat pe parcursul evoluției și își pregătesc corpul și mintea pentru a trece peste acel pericol. Reacții similare apar și la oameni, care se folosesc de cogniție, sistem motor și autonom pentru a-și sigura răspunsurile defensive, care se pot declanșa automat în caz de pericol. Uneori, schimbările care apar sunt atât de intense și se pot transforma în tulburări psihiatrice dacă reglarea nu este adecvată și apare un răspuns excesiv. Cele mai frecvente sunt patologiiile apărute în relație cu trauma, tulburările de anxietate (anxietate generalizată, tulburarea de panică, fobia) și depresia, iar ceea ce au toate în comun este frica (Young & Craske, 2018). Amintirile evenimentelor traumatice sau periculoase reprezintă fenomene adaptative pentru că permit anticiparea și evitarea pericolelor. Oricum, mecanismele neurofiziologice ale învățării emoționale reprezintă încă o provocare pentru strategiile terapeutice actuale.

Cerebelul are numeroase conexiuni anatomice și funcționale cu diferite structuri ale creierului (Manto et al., 2013). Conexiunile sale indirecte cu zonele nemotorii din cortexul prefrontal oferă cerebelului capacitatea de a participa la controlul cognitiv (Parker et al., 2014), în timp ce conexiunile sale cu sistemul limbic îi permit să influențeze comportamentul (X.-Y.

Zhang et al., 2016)(Heath & Harper, 1974). Mai mulți autori au avansat chiar și conceptul de cerebel limbic și au propus cerebelul ca o extensie a circuitului Papez (Schutter & Van Honk, 2005)(Piergiorgio Strata, 2015b). Nucleii cerebeloși profunzi au interconexiuni cu mai multe structuri limbice, inclusiv hipocamp (Heath & Harper, 1974), hipotalamus, nuclei septali, amigdala și accumbens (Harper & Heath, 1973), dar probabil legătura dintre acești nuclei și talamus este mult mai importantă decât celelalte în ceea ce privește cogniția și comportamentul.

Nucleul fastigial, cel situat cel mai aproape de linia mediană a cerebelului, se proiectează direct pe talamusul medial, care are conexiuni bidirecționale cu mai multe zone din cortexul prefrontal, inclusiv cortexul orbitofrontal lateral, frontal medial, prefrontal lateral și cortexul cingulat. Această anatomie oferă talamului medial capacitatea de a influența diferite funcții cognitive, în funcție de regiunea prefrontală activată (Klein et al., 2010). Nucleii cerebeloși formează bucle cerebello-talamo-corticale care sunt în strânsă relație cu zonele limbice, influențând astfel emoțiile și comportamentul. După cum s-a stipulat anterior, comunicarea dintre cerebel și cortexul cerebral este fundamentală pentru reglarea emoțională. Determinantul major al comportamentului este nucleul fastigial. Neuronii de proiecție glutamatergici fastigiali traversează linia mediană și influențează comportamentul (J. Zhang et al., 2015)(Bagnall et al., 2009).

Dovezi recente sugerează că cerebelul este necesar în formarea obiceiurilor și promovează un control comportamental flexibil prin exercitarea unui răspuns modulator pentru inițierea și finalizarea anumitor acțiuni, în colaborare cu cortexul prefrontal. Predicția și învățarea secvențială complexă (inclusiv condiționarea pavloviană) necesită o contribuție cerebeloasă, care pare să fie distorsionată în tulburările psihiatrice (Miquel, Nicola, Gil-Miravet, Guarque-Chabrera & Sanchez-Hernandez, 2019).

Prin intermediul neuroanatomiei, optogeneticii, chemogeneticii și electrofiziologiei (atât prin înregistrarea potențialelor de acțiune ale neuronilor individuali, cât și prin înregistrarea potențialelor de câmp local), s-a demonstrat că cerebelul are capacitatea de a neuromodula circuite subcortico-corticale și influența comportamentul. Toate experimentele au fost realizate la șoareci *in vivo*, aflați în liberă mișcare, ceea ce a permis obținerea unor rezultate cât mai aproape de ceea ce se întâmplă în mod normal în natură, iar limitările procedurilor au fost minime.

PARTEA SPECIALĂ

Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Reglarea emoțională reprezintă abilitatea individului de a exercita un control asupra propriilor sale stări. Frica este o emoție intensă, indusă de percepția unui pericol specific imediat, care cauzează schimbări fiziologice și comportamentale menite să îl pregătească și să îl apere pe subiect de acel pericol. La oameni și animale, această emoție se află în strânsă legătură cu cogniția. Studiile neurocomportamentale recente au încercat să descifreze din ce în ce mai multe componente ale circuitelor despre care se crede că produc și reglează frica (Perusini & Fanselow, 2015). Cercetarea acestor circuite a fost posibilă prin folosirea unor protocoale de învățare a fricii, denumite internațional „fear conditioning”, care se bazează pe o reacție Pavloviană, ce presupune administrarea repetată a unui stimul nociv în asociere cu un stimul neutru, care ulterior va genera frică doar la administrarea stimulului neutru.

Tot mai multe date recente converg spre ideea că cerebelul participă nu numai în învățarea motorie, cât și în comportamentul emoțional și memoria fricii (Lange et al., 2015)(Sacchetti et al., 2005)(Michael Ernst et al., 2019)(Leaton, 2003). În această teză, mi-am propus studierea rolului cerebelului în învățarea și extincția fricii, precum și efectele neuromodulării cerebeloase a circuitelor implicate în reglarea emoțională.

Într-o prima parte a studiului, am cercetat circuitul cerebelo-talamo-prefrontal în extincția fricii. Cortexul medial prefrontal, conținând cortexul infralimbic și prelimbic, se află în strânsă legătură cu talamusul mediodorsal, împreună cu care realizează extincția fricii (Lee et al., 2012). Talamusul mediodorsal are conexiuni dense cu amigdala și multiple alte structuri limbice, de aceea a fost considerat un sistem de memorie emoțional (Gillett & Webster, 1975). Cerebelul este de asemenea interconectat cu arii limbice, ceea ce îi permite să participe la expresia a numeroase emoții (Damasio et al., 2000). Acest fapt ne-a determinat să setăm ca principal obiectiv determinarea contribuției cerebelului la activitatea talamică și prefrontală atunci când șoarecii sunt supuși la un protocol de învățare și extincție a fricii. Obiectivele acestui studiu au fost: demonstrarea unei legături anatomo-fiziologice între cerebel și cortexul medial prefrontal, aflarea rolului pe care îl are calea nucleu fastigial al cerebelului – talamus mediodorsal – cortex prefrontal în comportament și care este modul în care activitatea

neuronală se modifică în talamusul mediodorsal și cortexul prefrontal în timpul experimentelor de fear conditioning și extincție.

A doua parte a studiului a constat în cercetarea contribuției proiecțiilor cerebeloase către substanța gri periaeductală în achiziția fricii. Obiectivele au fost determinarea tipului de legătură neuroanatomică între cerebel și substanța gri periaeductală ventrolaterală, demonstrarea unei conectivități funcționale între cele două structuri și descrierea efectului neuromodulării proiecțiilor cerebeloase asupra comportamentului de frică.

Ultima parte a studiului a constat în cercetarea efectului pe care îl are cerebelul asupra activității oscilatorii din cortexului motor și parietal și rolul său în menținerea conectivității intra și interemisferice. Obiectivul a fost investigarea activității oscilatorii corticale atunci când funcția cerebelului este perturbată. Adesea, anormalitățile motorii influențează circuitul fronto-striatal, iar disfuncția acestuia poate determina apariția tulburărilor afective prin alterarea sistemului limbic (Alexander et al., 1990). Așadar, obiectivul principal al studiului a devenit studierea gradului de conectivitate în circuitele corticale la care participă și cerebelul, pentru a afla dacă activitatea cerebelului este suficient de importantă încât să genereze alterări ale activității neuronale în cortex și asincronii, care ar putea genera apariția tulburărilor cognitive și comportamentale.

Metodologia generală a cercetării

Folosind o combinație între neuroanatomie, comportament (fear conditioning), chemogenetică, optogenetică și electrofiziologie la șoarecii aflați în liberă mișcare, am studiat contribuția căilor cerebelo-talamo-prefrontale și cerebel-substanță gri periaeductală în achiziția și extincția fricii. S-au folosit înregistrări unicelulare extracelulare, cu electrozi plasați în profunzime la nivelul structurilor dorite (talamus mediodorsal, cortex prefrontal, substanță gri periaeductală). Astfel, s-au putut înregistra potențialele de acțiune individuale ale neuronilor.

Contribuția circuitelor cerebelo-talamo-corticale în menținerea activității oscilatorii corticale normale a fost studiată folosind metode electrofiziologice - electrocorticografia (electrozi plasați la nivelul durei, deasupra regiunilor corticale de interes – cortex motor, parietal). Astfel, s-au înregistrat potențialele de câmp local (înregistrări pluricelulare extracelulare) la nivel cortical în timpul afectării outputului cerebelos la șoareci.

Studiul 1

Proiecțiile cerebeloase către talamusul mediodorsal controlează dispariția fricii

În acest studiu, am examinat rolul nucleului fastigial al cerebelului în achiziția amintirii care va reduce frica, adică în extincția fricii. Folosind o combinație de neuroanatomie, comportament, chemogenetică, optogenetică și electrofiziologie la șoarecii aflați în liberă mișcare, am cercetat contribuția căii cerebelo-talamo-prefrontale în extincția fricii. Studiul a arătat că neuronii din nucleul fastigial al cerebelului proiectează către partea laterală a talamusului mediodorsal, pe neuroni care proiectează mai departe la cortexul prefrontal (la IL și PL). Rezultatele au dezvăluit că nucleul fastigial modulează extincția prin schimbarea modelului de activare neuronală în MD și cortexul prefrontal. Inhibiția sau stimularea căii FN-MD în timpul extincției au crescut numărul de burst-uri pe secundă în MD, fapt ce a afectat extincția fricii.

Rezultate

Cercetarea noastră a descris o cale cerebelo-talamo-prefrontală implicată în extincția fricii. Modificările care apar în depolarizarea de tip burst în MD pot perturba achiziția memoriei de dispariție a fricii, adică extincția fricii, prin urmare cerebelul poate influența puternic încărcătura emoțională și poate controla comportamentul de frică modificând excitabilitatea talamusului prin intermediul neuronilor FN.

În studiul căii FN-MD, am început cu marcarea și evidențierea proiecțiilor nucleului fastigial către talamusul mediodorsal. De asemenea, am vrut să cercetăm și legătura cu amigdala, o structură atât de importantă în experimentarea fricii, și cortexul prefrontal, care încearcă să gestioneze această emoție. Trasarea realizată cu ajutorul virusurilor fluorescente a demonstrat că axonii FN ajung în partea laterală a MD. Această regiune este chiar zona care conține neuronii ce proiectează către ariile infralimbice și prelimbice din cortexul prefrontal. De asemenea, am observat neuroni în partea medială a MD care proiectează către amigdala.

Au urmat experimentele optogenetice, care au urmărit demonstrarea unei conexiuni funcționale între FN și MD. La stimularea luminoasă a FN, s-au putut observa activări neuronale foarte rapide, cu latențe de doar 4 ms în MD apărute imediat după stimularea specifică FN-MD, ceea ce sugerează o legătură excitatorie monosinaptică între FN și MD. S-

au observat însă rezultate heterogene pentru alți șoareci: deși aproape de fiecare dată am avut un răspuns la stimularea fibrei optice, latențele au fost variabile. Cu toate acestea, faptul că noi am putut observa latențe foarte scurte sugerează puternic că există o conexiune funcțională între aceste structuri și probabil aceasta implică un număr scăzut de sinapse. Aceste răspunsuri cu latență foarte scurtă pot rezulta de asemenea și din recrutarea foarte rapidă a căii FN-MD-mPFC, având în vedere că talamusul este un releu foarte eficient. Stimularea nespecifică a căii FN-MD a demonstrat un efect excitator important, iar gradul ridicat de răspuns al MD și cortexului prefrontal la stimularea FN a indicat o conectivitate funcțională robustă între cerebel și aceste structuri. În concluzie, rezultatele noastre sunt compatibile cu o participare a cerebelului la activitățile talamo-corticale care pot influența procesele emoționale.

Următoarea parte a studiului a constat în activarea sau inhibarea farmacogenetică a căii FN-MD prin intermediul sistemului CAV2-cre-DREADDS și CNO în timpul extincției pentru a observa efectele comportamentale apărute după această modulare și modul în care depolarizarea neuronală se schimbă în timpul achiziției și extincției fricii. Rezultatele au relevat că atât activarea, cât și inhibiția neuronilor FN care proiectează pe MD determină mai mult freezing, așadar suprimă achiziția și consolidarea memoriei de extincție a fricii. Astfel, se poate afirma că proiecțiile cerebelului către MD modulează extincția fricii.

Mai departe, am dorit să testăm dacă aceste rezultate au apărut consecutiv modificării sensibilității șoarecilor prin administrarea de CNO intraperitoneal. Am aflat că neuronii fastigiali care proiectează spre talamusul mediodorsal nu alterează sau cresc sensibilitatea dureroasă a animalelor. Următorul pas a constat în testarea comportamentului anxios în prezența CNO. Rezultatele au arătat că modularea chemogenetică a axonilor FN ce proiectează în MD nu determină anxietate generalizată atunci când sunt activați sau inhibați de CNO. În concluzie, rezultatele acestor teste au sugerat că proiecțiile FN-MD contribuie mai mult la extincția fricii decât la alte emoții negative, cum ar fi durerea și anxietatea.

Următorul pas a fost examinarea activității neuronale în MD din punct de vedere electrofiziologic. Analiza de tip clustering a potențialelor de acțiune neuronale înregistrate pe tot parcursul tuturor experimentelor a relevat existența clară a două clase diferite de neuroni în MD, cu amplitudine și durată diferite ale potențialelor de acțiune, de aceea i-am denumit neuroni de cinetică rapidă sau lentă. Acesta este un rezultat extraordinar, având în vedere că studiile anterioare nu au putut să diferențieze din punct de vedere electrofiziologic acești neuroni.

Obiectivul următor a fost descrierea profilului de descărcare neuronală în timpul învățării și extincției fricii. Rezultatele au dezvăluit că neuronii din talamusul mediodorsal, IL și PL manifestă două tipuri de răspunsuri la stimulul condiționat (CS) în fear conditioning și extincție. În timpul administrării CS, o populație de neuroni răspunde cu o inhibiție, adică manifestă o scădere semnificativă a ratei de depolarizare, care se menține pe tot parcursul și chiar dincolo de timpul de prezentare a CS. O altă populație neuronală a prezentat un răspuns tranzitoriu: o creștere mică și tranzitorie a ratei de depolarizare a apărut imediat după debutul CS, iar frecvența de depolarizare a revenit la nivelurile bazale după 3 secunde. Răspunsurile în MD, IL și PL au fost similare. Am examinat apoi distribuția tipului de răspuns între cele două clase de neuroni găsiți în MD. Datele au relevat că 22,3% din neuroni răspund cu o scădere a ratei de depolarizare în timpul administrării CS, în timp ce 77,7% dintre neuroni nu își modifică rata de depolarizare. Analiza a relevat că majoritatea celulelor responsive (69,6%) fac parte din neuronii cu cinetică lentă și doar 30,4% din cei cu cinetică rapidă. Mai mult, aproximativ 70% din celulele inhibate de CS aparțineau grupului cu cinetică rapidă, sugerând implicări diferite ale celor două tipuri de neuroni MD în aceste răspunsuri.

Ambele modele de depolarizare au fost găsite și în PL și IL în timpul administrării CS. Așadar, ambele categorii de răspunsuri, atât în structurile prefrontale, cât și în grupurile cu DREADDs excitatorii și inhibitorii au fost observate. Am examinat apoi dacă proporția tipului de răspuns s-a modificat de-a lungul condiționării fricii și extincției. La șoarecii cu DREADDs excitatorii și inhibitorii, proporția celulelor inhibate a crescut între FC și EXT1 (deci în prezența CNO) în toate structurile, însă foarte puțini neuroni au prezentat un răspuns inhibat în EXT3 (fără stimulare CNO). În general, rezultatele au arătat o creștere selectivă a proporției de celule inhibate de CS în întreaga rețea MD-mPFC atunci când neuronii FN-MD sunt modulați chemogenetic și extincția fricii este redusă.

Mai departe am examinat modul în care activarea sau inhibarea chemogenetică a neuronilor FN-MD a afectat tiparele de depolarizare din MD. În acest scop, am cuantificat apariția bursturilor și pauzelor în MD în timpul FC, EXT1 și EXT3. În general, am constatat că rata bursturilor și frecvența de depolarizare din bursturi au fost stabile în starea bazală în grupul de control, cu mici creșteri în apariția pauzelor în timpul extincției. În schimb, în timpul CS, rata de depolarizare din interiorul bursturilor și rata pauzelor au fost reduse în mod constant în toate fazele învățării, sugerând o mică reducere a neregularității de depolarizare a neuronilor MD. La șoarecii cu DREADDs excitatorii și inhibitorii, am constatat că în EXT1 există creșteri foarte puternice ale ratei bursturilor, a ratei de depolarizare în interiorul bursturilor și a ratei

pauzelor, ceea ce apare în concordanță cu o neregularitate crescută; toate aceste caracteristici au fost, de asemenea, observate în timpul CS și nu am găsit nicio diferență semnificativă între cele două grupuri în EXT1, rezultat compatibil cu reducerea învățării extincției fricii în cele două grupuri. Acest lucru indică faptul că neuronii FN care proiectează în MD participă la regularitatea depolarizării în neuronii MD și că modularea bidirecțională a depolarizării lor duce întotdeauna la o neregularitate crescută. În cele din urmă, modificările din EXT1 au revenit la valori apropiate de valorile de bază din EXT3, sugerând o acțiune indusă direct de CNO, adică de modularea cerebeloasă.

Am examinat mai departe modul în care bursturile au fost legate de capacitatea de răspuns la CS a neuronilor MD. Rezultatele au arătat că proporțiile de celule care prezintă și cele care nu prezintă burst sunt semnificativ diferite între neuronii rapid-cinetici și lent-cinetici, cu 66,8% dintre neuronii de cinetică rapidă considerați de tip burst și 32,2% considerați non-burst. În continuare, am verificat dacă comportamentul de tip burst a fost legat de diferențele electrofiziologice de bază ale neuronilor cu cinetică rapidă și lentă. În populația de șoareci care au contribuit la experimentele chemogenetice, 52% au fost clasificați drept neuroni cu cinetică rapidă, în timp ce 48% au fost clasificați ca neuroni cu cinetică lentă. Depolarizarea de tip burst s-a produs mai frecvent în populația de neuroni lent-cinetici (51,4%). În general, în ciuda unei distribuții ușor neuniforme a neuronilor cinetici rapizi și lenți în populațiile de tip burst și non-burst, aceste proprietăți par în principal independente, sugerând că un comportament de tip burst nu este direct legat de proprietățile intrinseci ale neuronilor.

Am examinat apoi în toate grupurile evoluția proporției de celule tip burst de-a lungul învățării. Nu s-a găsit nicio diferență în depolarizarea de tip burst între FC, EXT 1 și EXT 3 în grupul de control. În grupurile cu DREADDs inhibitor sau excitator, proporția neuronilor tip burst a fost crescută în EXT1 comparativ cu EXT3, așadar bursturile au predominat atunci când neuronii FN au fost modulați chemogenetic.

Interesant este că evoluția proporției de celule tip burst descrise mai sus este paralelă cu evoluția capacității de răspuns la CS. Am examinat apoi modul în care neuronii inhibați de CS și cei CS-tranzitorii au fost distribuiți între populația de neuroni burst și non-burst. Majoritatea a neuronilor inhibați de CS (83,3%) aparțineau populației tip burst, în timp ce 16,7% dintre neuroni aparțineau celei non-burst. Pe de altă parte, doar 30% din celulele CS-tranzitorii au prezentat burst în timpul experimentelor. Diferența de proporție a celulelor care

au prezentat burst și celor care nu au prezentat burst în grupul inhibat de CS a fost semnificativă statistic, prin urmare, comportamentul apărut este puternic legat de responsivitatea celulei.

În concluzie, comportamentul de bursting pare strâns legat de învățarea extincției fricii, așa cum arată predominanța celulelor de tip burst printre neuronii inhibați de CS. Mai mult decât atât, grupurile cu DREADDs activatorii și inhibitorii au prezentat niveluri mai ridicate de depolarizare de tip burst în timpul învățării extincției, care par a fi avut un rol major în sensul prevenirii învățării extincției.

Studiul 2

Controlul bidirecțional al fricii prin neuronii cerebeloși care proiectează la substanța gri periapeductală

Scopul prezentei lucrări este de a studia contribuția eferențelor specifice FN la învățarea fricii. Folosind trasările neuroanatomice, modularea chemogenetică a proiecțiilor cerebeloase în vIPAG în timpul condiționării și extincției fricii, optogenetică și înregistrări electrofiziologice extracelulare la animale aflate în liberă mișcare, demonstrăm contribuția cerebelului la învățarea fricii prin proiecțiile sale și cooperarea cu vIPAG.

Rezultate

Rezultatele studiului indică existența unor aferențe glutamatergice directe în vIPAG, monosinaptice, de la nucleul fastigial din cerebel. Terminațiile glutamatergice (provenind din neuroni din FN) s-au dovedit a face contact atât cu neuronii glutamatergici, cât și cu cei GABAergici din vIPAG. Stimularea luminoasă ulterioară a neuronilor din FN și înregistrarea activității neuronilor în vIPAG la șoarecii aflați în liberă mișcare a indicat o deflexiune negativă a potențialului de câmp local, sincronă cu o creștere a frecvenței de depolarizare la nivelul vIPAG contralateral nucleului FN stimulat. Există o creștere a numărului de celule din PAG ce răspund la stimulare, creștere direct proporțională cu intensitatea luminoasă folosită, iar latențele de activare variază între 7 și 50 ms, sugerând existența unei activări atât directe, cât și

indirecte a vIPAG prin aferențele provenite din FN. Aceste rezultate demonstrează existența unei conectivități funcționale între FN și vIPAG.

Pentru a determina dacă FN-vIPAG joacă un rol în condiționarea fricii Pavloviene, am examinat efectul activării sau inhibării tranzitorii a acestor proiecții. În timpul primei zile de extincție, șoarecii în care calea FN-vIPAG a fost activată (în timpul condiționării fricii), au prezentat o scădere drastică a comportamentului de freezing de-a lungul prezentărilor stimulilor, atingând nivelurile bazale (de la sfârșitul primei sesiuni de extincție). Șoarecii la care calea FN-vIPAG a fost inhibată au prezentat un comportament de freezing mai puternic pe parcursul zilelor de extincție, comparativ cu șoarecii martor. Atunci când am evaluat menținerea pe termen lung a amintirilor de frică și extincție printr-o sesiune de recall, șoarecii care au suferit activarea FN-vIPAG în timpul condiționării fricii au prezentat o amintire mai mică a fricii decât șoarecii control, în timp ce șoarecii care au suferit inhibarea FN-vIPAG au prezentat o memorie de frică crescută în comparație cu șoarecii control. Aceste rezultate indică faptul că proiecțiile FN-vIPAG contribuie la formarea amintirilor de frică condiționate; activarea acestei căi în timpul condiționării fricii scade capacitatea formării amintirii fricii, în timp ce inhibarea acestei căi o mărește.

Pentru a evalua corelațiile neuronale ale învățării fricii în FN și vIPAG, am înregistrat activitatea extracelulară în timpul condiționării. Pentru a corela activitatea de depolarizare în FN și vIPAG cu imobilitatea șoarecelui, am combinat înregistrările celulare cu măsurători ale mișcărilor șoarecelui, folosind un senzor inerțial atașat la capul șoarecilor. Am examinat modularea depolarizării în jurul debutului imobilității în neuronii vIPAG și FN. Două clase de asociere cu imobilitatea au fost observate în vIPAG și în FN: un set de celule a prezentat o reducere puternică a depolarizării la debutul imobilității, în timp ce un al doilea set a prezentat doar modulații ușoare. Am examinat apoi modularea celulelor ca răspuns la stimuli. Reducerea depolarizării a fost observată de obicei pe parcursul perioadei de imobilitate. Am găsit o corespondență puternică între modulația observată în raport cu imobilitatea înainte și după condiționare: nicio celulă nu prezintă o modulație clară unică freezingului, nici în vIPAG, nici în FN.

Pentru a analiza interdependențele dintre depolarizarea FN și vIPAG și a lua în considerare imobilitatea, ne-am orientat către abordările teoriei informației, care oferă estimări imparțiale ale relației, fie liniare, fie neliniare, între seriile de timp. Am folosit mai întâi transferul de entropie, un caz specific de informații reciproce condiționate, pentru a examina transmiterea informațiilor între perechi, ordonate temporar între FN și PAG. Am observat un

transfer mai puternic de entropie de la FN la vIPAG decât inversul, așadar neuronii vIPAG înregistrați în studiul nostru par mai puternic influențați de FN și de activitatea motorie decât inversul. Am constatat că în starea inițială, contribuția unică a FN la depolarizarea vIPAG este doar o mică parte din contribuția totală a FN și a activității motorii, dar este semnificativ mai mică în grupul de control decât în grupul cu receptori activatori. Acest lucru indică faptul că excitarea FN de către CNO crește contribuția relativă la depolarizarea vIPAG.

Studiul 3

Disfuncția cerebelului induce perturbarea activității oscilatorii corticale

Cerebelul a fost dintotdeauna recunoscut ca fiind o piesă crucială în activitatea motorie, mai precis în coordonarea mișcărilor și în învățarea motorie, însă dovezi recente îi susțin implicarea și în emoție și cogniție. Cerebelul își poate realiza aceste funcții prin intermediul legăturilor pe care le stabilește cu alte structuri nervoase: el primește informații prin intermediul căilor cerebelo-ponto-cerebeloase și cerebelo-olivo-cerebeloase (Schmahmann & Pandya, 1997) și apoi influențează activitatea neuronală nu numai în cortexul motor prefrontal (Middleton & Strick, 2002), cât și în numeroase alte circuite motorii, non-motorii și alte regiuni corticale, precum cortexul parietal, influențându-le activitatea oscilatorie și, consecutiv, funcția (Georgescu et al., 2018). Astfel, datorită numeroaselor conexiuni anatomice și funcționale pe care le are cerebelul, acesta poate modifica activitatea electrică corticală și în alte arii care nu sunt direct responsabile de activitatea motorie, dar care, datorită conexiunilor indirecte, fluctuează în momentul în care se execută o sarcină motorie. Acest fapt poate duce la perturbarea activității oscilatorii în ariile corticale responsabile de reglarea emoțiilor atunci când funcția cerebelului este afectată. Astfel, integritatea circuitelor subcortico-corticale și gradul de comunicare între acestea devin elemente fundamentale în împiedicarea apariției tulburărilor psihiatrice. De altfel, se cunoaște că circuitele tip ganglioni bazali-talamus-cortex sunt implicate în apariția de numeroase tulburări cognitive și comportamentale, iar acestea se dezvoltă cel mai probabil ca o consecință a efectului pe care îl au anormalitățile motorii asupra circuitului fronto-striatal. Mai precis, disfuncția circuitului poate determina apariția tulburărilor afective prin alterarea sistemului limbic (Alexander et al., 1990).

În studiul nostru, am perturbat eferențele cerebeloase cu ajutorul acidului kainic, un agonist glutamatergic excitator, pe care l-am administrat la suprafața cerebelului, deasupra vermisului. Studiul a urmărit modul în care se alterează comunicarea interemisferică la nivelul cortexului motor, precum și modul în care activitatea neuronală din cortexul motor și parietal se modifică atunci când comunicarea în rețeaua cerebelo-corticală este afectată.

Rezultate

Cortexul motor a prezentat creșteri ale densității puterii spectrale în benzile de frecvență înaltă în ultimele zile de experiment. Analiza datelor culese din cortexul motor a relevat importante creșteri ale densității puterii spectrale. Acestea au fost evidente în benzile de înaltă frecvență (gamma joasă și înaltă), maximul fiind atins în ziua 5 pentru perioadele post-kainat, iar, în mod interesant, această creștere a fost vizibilă inclusiv pentru perioadele de pre-administrare de kainat. Rezultatele sugerează o plasticitate crescută în cortexul motor, apărută probabil ca un mecanism adaptativ, care încearcă să corecteze mișcările anormale generate de o activitate cerebeloasă anormală.

În ceea ce privește coerența interemisferică, analiza la nivelul cortexurilor motorii stâng și drept a demonstrat scăderi semnificative în benzile de frecvență scăzută (în delta, theta, beta), începând cu prima zi de administrare a acidului kainic, scădere progresivă menținută pe toată durata experimentelor, comparativ cu controlul. Frecvențele înalte au urmat însă alte tendințe: banda gamma înaltă a înregistrat inițial o scădere nesemnificativă a coerenței, care ulterior a început să crească, atingând un maxim în ziua 5 de administrare a acidului kainic.

Cortexul parietal a prezentat creșteri ale densității puterii spectrale în benzile de frecvență înaltă în ultimele zile de experiment. Analiza datelor culese din cortexul parietal a relevat importante creșteri ale densității puterii spectrale, atât înainte, cât și după administrarea kainatului, în special în benzile de înaltă frecvență (gamma joasă și gamma înaltă) și în ultimele zile de experiment.

Coerențele cortex motor-cortex parietal au fost calculate pentru fiecare bandă de frecvență. S-a observat o creștere a coerenței în zilele 4 și 5 în benzile gamma. Mai mult, se observă creșteri semnificative de la o zi la alta, în special între ziua 4 și ziua 5 de administrare de kainat, în gamma.

CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

În cadrul acestei lucrări mi-am propus să studiez capacitatea cerebelului de a exercita control asupra diverselor circuite implicate în învățarea și extincția fricii și de a interveni astfel în reglarea emoțională. Experimentele s-au bazat pe cercetarea eferențelor cerebeloase în raport cu o parte din structurile aparținând sistemului limbic. Mai precis, studiul a urmărit evidențierea și descrierea rolului căii nucleu fastigial al cerebelului – talamus mediodorsal – cortex prefrontal (cortex infralimbic și prelimbic) în timpul proceselor de extincție a fricii, descrierea rolului căii nucleu fastigial al cerebelului – substanță gri periaeductală ventrolaterală în timpul achiziției fricii și descrierea modificărilor activității oscilatorii corticale atunci când apare o disfuncție cerebeloasă.

În studiul căii FN-MD, am constatat următoarele:

- Există o legătură anatomo-funcțională între cerebel și talamusul mediodorsal, demonstrată prin marcarea fluorescentă a unei căi cerebelo- mediodorso-talamice– prefrontale și evidențierea unor latențe de scurtă durată în MD (4 ms) și cortexul prefrontal la stimularea optogenetică a neuronilor fastigiali.
- Proiecțiile cerebelului către MD modulează extincția fricii. Mai precis, atât activarea, cât și inhibiția acestei căi neuronale suprimă achiziția și consolidarea extincției fricii, indicate prin nivelurile crescute de freezing arătate de șoareci. Rezultatul a fost obținut prin modularea chemogenetică a căii FN-MD în timpul protocolului de extincție a fricii.
- Atât activarea, cât și inhibiția chemogenetică a căii FN-MD cresc numărul de bursturi/secundă și frecvența de depolarizare în interiorul bursturilor în timpul extincției fricii în talamusul mediodorsal, fapt demonstrat prin înregistrarea și analiza activității neuronale individuale.
- Modelul de depolarizare în MD, IL și PL se schimbă în timpul extincției, atunci când se activează sau inhibă neuronii FN ce proiectează pe MD. Comportamentul de bursting pare strâns legat de învățarea extincției fricii, așa cum arată predominanța celulelor de tip burst printre neuronii inhibați de stimulul condiționat.
- Există două forme diferite ale potențialelor de acțiune neuronale în MD.
- Există două tipuri de răspunsuri la stimulul condiționat în achiziția fricii și în extincție în MD, IL, PL: unul de inhibiție a frecvenței de depolarizare, iar celălalt tranzitoriu.

În studiul cerebel-vIPAG, experimentele efectuate au arătat că neuronii glutamatergici din FN își trimit axonii în vIPAG, unde fac sinapsă cu neuronii glutamatergici și GABAergici. Activarea optogenetică a acestei căi în timpul achiziției fricii crește activitatea în neuronii PAG, dar determină niveluri reduse ale expresiei fricii în timpul extincției și al recall-ului. Inhibiția chemogenetică a acestei căi în timpul fear conditioning-ului determină o expresie mai mare a fricii și încetinește extincția, iar activarea sa creează efectul opus. Se poate afirma așadar că cerebelul exercită un control bidirecțional asupra vIPAG, cu ajutorul căreia permite învățarea fricii.

În concluzie, cu ajutorul neuroanatomiei, testelor comportamentale, optogeneticii, chemogeneticii și electrofiziologiei, în această lucrare am demonstrat existența unor legături anatomo-fiziologice între cerebel și talamusul mediodorsal și între cerebel și substanța gri periapeductală ventrolaterală, conexiuni ce s-au dovedit a avea capacitatea de a neuromodula diverse circuite limbice din care aceste structuri fac parte, influențând astfel comportamentul de frică.

Următoarele obiective ale acestei lucrări au cuprins descrierea modului în care cerebelul influențează comunicarea în rețeaua cerebelo-corticală, determinarea modului în care activitatea neuronală din cortexul motor și parietal se modifică atunci când apare o disfuncție cerebeloasă, precum și modul în care coerențele intra (la nivel cortex motor-cortex parietal) și interemisferice (la nivel cortex motor-cortex motor) se schimbă atunci când activitatea cerebelului este perturbată.

Analiza datelor culese din cortexul motor și parietal a relevat rezultate similare pentru cele două regiuni. Au apărut importante creșteri ale densității puterii spectrale în benzile de înaltă frecvență. S-a observat o creștere treptată a densității puterii spectrale pe parcursul zilelor de experiment, astfel încât maximul său s-a obținut în ziua 5 pentru perioadele de post-administrare de kainat, iar diferențele au fost semnificative de la o zi la alta în ultimele două zile de experiment.

În ceea ce privește coerența interemisferică, analiza la nivelul cortexurilor motorii stâng și drept a demonstrat scăderi semnificative în benzile de frecvență scăzută (în delta, theta, beta), începând cu prima zi de administrare a acidului kainic, scădere progresivă menținută pe toată durata experimentelor, comparativ cu controlul. Frecvențele înalte au urmat însă alte tendințe: banda gamma înaltă a înregistrat inițial o scădere nesemnificativă a coerenței, care ulterior a început să crească, atingând un maxim în ziua 5 de administrare a acidului kainic. Cât despre

coerența intraemisferică, între cortexul motor și cel parietal, am observat o creștere a acesteia în zilele 4 și 5 în benzile gamma.

Rezultatele sugerează o plasticitate crescută în cortexul motor și parietal, apărută probabil ca un mecanism adaptativ, care încearcă să corecteze mișcările anormale sau activitățile oscilatorii aberante generate de o activitate cerebeloasă anormală.

Listă de abrevieri

MD – talamus mediodorsal

IL – cortex infralimbic

PL - cortex prelimbic

PFC – cortex prefrontal

mPFC – cortex prefrontal medial

FN – nucleu fastigial al cerebelului

vIPAG – substanța gri periaeductală ventrolaterală

CNO – clozapine-N-oxide

FC – fear conditioning

EXT – extincție

DREADDs – Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs

GABA – acid gamma aminobutiric

CS – stimul condiționat

CAV – adenovirus canin

Bibliografie

- Aldao, A., Nolen-Hoeksema, S., & Schweizer, S. (2010). Emotion-regulation strategies across psychopathology: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review, 30*(2), 217–237. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2009.11.004>
- Alexander, G. E., Crutcher, M. D., & DeLong, M. R. (1990). Basal ganglia-thalamocortical circuits: Parallel substrates for motor, oculomotor, prefrontal and limbic functions. *Progress in Brain Research Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division), 85*, 119–149. http://ac.els-cdn.com/S0079612308626783/1-s2.0-S0079612308626783-main.pdf?_tid=a7e00e30-63f2-11e6-892a-00000aab0f27&acdnat=1471380633_ba838a2221d36104e74cd2cc84d54fd5
- Bagnall, M. W., Zingg, B., Sakatos, A., Moghadam, S. H., Zeilhofer, H. U., & Lac, S. d. (2009). Glycinergic Projection Neurons of the Cerebellum. *Journal of Neuroscience, 29*(32), 10104–10110. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2087-09.2009>
- Bandelow, B., & Michaelis, S. (2015). Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues in Clinical Neuroscience, 17*(3), 327–335. <https://doi.org/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4610617/pdf/DialoguesClinNeurosci-17-327.pdf>
- Beauregard, M., Paquette, V., & Levesque, J. (2006). Dysfunction in the neural circuitry of emotional self-regulation in major depressive disorder. *Learning and Memory, 17*(8), 843–846. <https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000220132.32091.9f>
- Benjet, C., Bromet, E., Karam, E. G., Kessler, R. C., McLaughlin, K. A., Ruscio, A. M., Shahly, V., Stein, D. J., Petukhova, M., Hill, E., Alonso, J., Atwoli, L., Bunting, B., De Girolamo, G., Florescu, S., Gureje, O., Lepine, J. P., Kawakami, N., Kovess-Masfety, V., ... Koenen, K. C. (2016). The epidemiology of traumatic event exposure worldwide: results from the World Mental Health Survey Consortium. *Psychological Medicine, 46*(2), 327–343. <https://doi.org/10.1017/S0033291715001981>
- Bloodgood, D. W., Sugam, J. A., Holmes, A., & Kash, T. L. (2018). Fear extinction requires infralimbic cortex projections to the basolateral amygdala. *Translational Psychiatry, 8*(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0106-x>

- Burton, R. (1621). *The Anatomy of Melancholy* (1883. Chatto and Windus, London (ed.); 2009th ed.). Published by the Ex-classics Project, 2009, Public Domain.
- Damasio, A. R., Grabowski, T. J., Bechara, A., Damasio, H., Ponto, L. L. B., Parvizi, J., & Richard D. Hichwa, A. (2000). Subcortical and cortical brain activity during the feeling of self-generated emotions. *Nature Neuroscience*, *09*(3), 1049–1056. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/79871>
- Diekhof, E. K., Geier, K., Falkai, P., & Gruber, O. (2011). Fear is only as deep as the mind allows. A coordinate-based meta-analysis of neuroimaging studies on the regulation of negative affect. *NeuroImage*, *58*(1), 275–285. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.05.073>
- Dixon, M. L., Thiruchselvam, R., Todd, R., & Christoff, K. (2017). Emotion and the Prefrontal Cortex : An Integrative Review Challenges in Understanding the Role of the PFC in Emotion. *Psychological Bulletin*, *143*(10), 1033–1081. <https://doi.org/10.1037/bul0000096>
- Georgescu, E. L., Georgescu, I. A., Zahiu, C. D. M., Ștepoaie, A. R., Moroza, V. P., Pana, A. Ștefan, Zagrean, A.-M., & Popa, D. (2018). Oscillatory cortical activity in an animal model of dystonia caused by cerebellar dysfunction. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *12*(390), 1–23. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00390>
- Gillett, G. R., & Webster, D. M. (1975). Mediodorsal nucleus and behavior regulation in the rat. *Physiology and Behavior*, *14*(6), 883–885. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(75\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0031-9384(75)90087-6)
- Harper, J. W., & Heath, R. G. (1973). Anatomic connections of the fastigial nucleus to the rostral forebrain in the cat. *Experimental Neurology*, *39*(2), 285–292. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(73\)90231-8](https://doi.org/10.1016/0014-4886(73)90231-8)
- Heath, R. G., & Harper, J. W. (1974). Ascending projections of the cerebellar fastigial nucleus to the hippocampus, amygdala, and other temporal lobe sites. *Experimental Neurology*, *45*(2), 268–287. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-4886\(74\)90118-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-4886(74)90118-6)
- Ikemoto, S. (2019). Regulation of negative emotional behavior. *Science*, *366*(6469), 1071–1072. <https://doi.org/doi:10.1126/science.aaz8638>
- Kaiser, R. H., Andrews-Hanna, J. R., Wager, T. D., & Pizzagalli, D. A. (2015). Large-Scale

- Network Dysfunction in Major Depressive Disorder A Meta-analysis of Resting-State Functional Connectivity. *JAMA Psychiatry*, 72(6), 603–611. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.0071>
- Kaufman, J., Plotsky, P. M., Nemeroff, C. B., & Charney, D. S. (2000). Effects of early adverse experiences on brain structure and function: Clinical implications. *Biological Psychiatry*, 48(8), 778–790. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)00998-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)00998-7)
- Klein, J. C., Rushworth, M. F. S., Behrens, T. E. J., Mackay, C. E., de Crespigny, A. J., D’Arceuil, H., & Johansen-Berg, H. (2010). Topography of connections between human prefrontal cortex and mediodorsal thalamus studied with diffusion tractography. *NeuroImage*, 51(2), 555–564. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.02.062>
- Kohn, N., Eickhoff, S. B., Scheller, M., Laird, A. R., Fox, P. T., & Habel, U. (2014). NeuroImage Neural network of cognitive emotion regulation — An ALE meta-analysis and MACM analysis. *NeuroImage*, 87, 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.11.001>
- Lange, I., Kasanova, Z., Goossens, L., Leibold, N., De Zeeuw, C. I., van Amelsvoort, T., & Schruers, K. (2015). The anatomy of fear learning in the cerebellum: A systematic meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 59, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.09.019>
- Leaton, R. (2003). Fear and the cerebellum. *Molecular Psychiatry*, 8(5), 461–462. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001286>
- LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23(4–5), 727–738. <https://doi.org/10.1023/A:1025048802629>
- Lee, S., Ahmed, T., Lee, S., Kim, H., Choi, S., Kim, D. S., Kim, S. J., Cho, J., & Shin, H. S. (2012). Bidirectional modulation of fear extinction by mediodorsal thalamic firing in mice. *Nature Neuroscience*, 15(2), 308–314. <https://doi.org/10.1038/nn.2999>
- Loeffler, L. A. K., Radke, S., Habel, U., Ciric, R., Satterthwaite, T. D., Schneider, F., & Derntl, B. (2018). The regulation of positive and negative emotions through instructed causal attributions in lifetime depression – A functional magnetic resonance imaging study. *NeuroImage: Clinical*, 20(August), 1233–1245. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.10.025>

- López, J. F., Akil, H., & Watson, S. J. (1999). Neural circuits mediating stress. *Biological Psychiatry*, *46*(11), 1461–1471. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00266-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00266-8)
- Manto, M., Gruol, D. L., Schmahmann, J. D., Koibuchi, N., & Rossi, F. (2013). Handbook of the cerebellum and cerebellar disorders. *Handbook of the Cerebellum and Cerebellar Disorders, January*, 1–2424. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1333-8>
- Michael Ernst, T., Evelina Brol, A., Gratz, M., Ritter, C., Bingel, U., Schlamann, M., Maderwald, S., Quick, H. H., Josef Merz, C., & Timmann, D. (2019). The cerebellum is involved in processing of predictions and prediction errors in a fear conditioning paradigm. *ELife*, *8*, 1–26. <https://doi.org/10.7554/eLife.46831>
- Middleton, F. A., & Strick, P. L. (2002). Basal-ganglia “projections” to the prefrontal cortex of the primate. *Cerebral Cortex*, *12*(9), 926–935. <https://doi.org/10.1093/cercor/12.9.926>
- Miquel, M., Nicola, S. M., Gil-Miravet, I., Guarque-Chabrera, J., & Sanchez-Hernandez, A. (2019). A Working Hypothesis for the Role of the Cerebellum in Impulsivity and Compulsivity. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *13*(May), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00099>
- Myers, K. M., & Davis, M. (2007). Mechanisms of fear extinction. *Molecular Psychiatry*, *12*(2), 120–150. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001939>
- Parker, K. L., Narayanan, N. S., & Andreasen, N. C. (2014). The therapeutic potential of the cerebellum in schizophrenia. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *8*(September), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00163>
- Parnaudeau, S., Bolkan, S. S., & Kellendonk, C. (2018). The Mediodorsal Thalamus: An Essential Partner of the Prefrontal Cortex for Cognition. *Biological Psychiatry*, *83*(8), 648–656. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.008>
- Pavlov, I. P. (1927). Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex. In *Annals of Neurosciences* (Vol. 17, Issue 3, pp. 136–141). <https://doi.org/https://doi.org/10.5214/ans.0972-7531.1017309>
- Perusini, J. N., & Fanselow, M. S. (2015). Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. *Learning and Memory*, *22*(9), 417–425. <https://doi.org/10.1101/lm.039180.115>
- Phillips, M. L., Drevets, W. C., Rauch, S. L., & Lane, R. (2003). Neurobiology of Emotion

- Perception I: The Neural Basis of Normal Emotion Perception. *Biological Psychiatry*, 54(5), 504–514. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(03\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(03)00168-9)
- Rive, M. M., Rooijena, G. van, Veltmanb, D. J., Phillips, M. L., Schenea, A. H., & Ruhéa, H. G. (2013). Neural correlates of dysfunctional emotion regulation in major depressive disorder. A systematic review of neuroimaging studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.07.018>
- Sacchetti, B., Scelfo, B., & Strata, P. (2005). The cerebellum: Synaptic changes and fear conditioning. *Neuroscientist*, 11(3), 217–227. <https://doi.org/10.1177/1073858405276428>
- Sanides, F. (1970). Functional Architecture of Motor and Sensory Cortices in Primates in the Light of a New Concept of Neocortex Evolution. In C. Noback & W. Montagna (Eds.), *The Primate Brain: Advances in Primatology*. New York: Appleton-Century-Crofts. [publication/uuid/48C167D3-3C0D-4240-9DFB-C4676919BA74](https://doi.org/10.1177/1073858405276428)
- Saper, C. B., & Stornetta, R. L. (2015). Central Autonomic System. In *The Rat Nervous System: Fourth Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00023-1>
- Schmahmann, J. D., & Pandya, D. N. (1997). Anatomic organization of the basilar pontine projections from prefrontal cortices in rhesus monkey. *Journal of Neuroscience*, 17(1), 438–458. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-01-00438.1997>
- Schmahmann, J. D., & Sherman, J. C. (1998). The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain*, 121(4), 561–579. <https://doi.org/10.1093/brain/121.4.561>
- Schutter, D. J. L. G., & Van Honk, J. (2005). The cerebellum on the rise in human emotion. *Cerebellum*, 4(4), 290–294. <https://doi.org/10.1080/14734220500348584>
- Shalev, A., Liberzon, I., & Marmar, C. (2017). Post-traumatic stress disorder. *New England Journal of Medicine*, 376(25), 2459–2469. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1612499>
- Sierra-Mercado, D., Padilla-Coreano, N., & Quirk, G. J. (2011). Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology*, 36(2), 529–538. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1038/npp.2010.184>
- Strata, P., Scelfo, B., & Sacchetti, B. (2011). Involvement of cerebellum in emotional behavior. *Physiological Research*, 60(SUPPL.1), S39–S48.

<https://doi.org/https://doi.org/10.33549/physiolres.932169>

- Strata, Piergiorgio. (2015a). The Emotional Cerebellum. *Cerebellum*, 14(5), 570–577. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0649-9>
- Strata, Piergiorgio. (2015b). The Emotional Cerebellum. *Cerebellum*, 14(5), 570–577. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0649-9>
- Taber, K. H., Wen, C., Khan, A., & Hurley, R. A. (2004). The Limbic Thalamus. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 16(2), 127–132. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.16.2.127>
- Tovote, P., Fadok, J. P., & Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 317–331. <https://doi.org/10.1038/nrn3945>
- Vidal-Gonzalez, I., Vidal-Gonzalez, B., Rauch, S. L., & Quirk, G. J. (2006). Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learning and Memory*, 13(6), 728–733. <https://doi.org/10.1101/lm.306106>
- Wilcox, C. E., Pommy, J. M., & Bryon Adinoff, A. (2016). Neural Circuitry of Impaired Emotion Regulation in Substance Use Disorders. *The American Journal of Psychiatry*, 173(4), 344–361. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.15060710>.
- Young, K. S., & Craske, M. G. (2018). Survival circuits in affective disorders. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 24(September), 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.03.001>
- Zhang, J., Zhuang, Q. X., Li, B., Wu, G. Y., Yung, W. H., Zhu, J. N., & Wang, J. J. (2015). Selective Modulation of Histaminergic Inputs on Projection Neurons of Cerebellum Rapidly Promotes Motor Coordination via HCN Channels. *Molecular Neurobiology*, 53(2), 1386–1401. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9096-3>
- Zhang, X.-Y., Wang, J.-J., & Zhu, J.-N. (2016). Cerebellar fastigial nucleus: from anatomic construction to physiological functions. *Cerebellum & Ataxias*, 3(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40673-016-0047-1>

Lista cu lucrările științifice publicate în perioada studiilor doctorale

Articole publicate în reviste de specialitate

1. **Georgescu, I. A.**, Popa, D., & Zagrean, L. (2020). The anatomical and functional heterogeneity of the mediodorsal thalamus. *Brain Sciences*, *10*(624), 1–17. <https://doi.org/10.3390/brainsci10090624> **(ISI, Factor de impact: 3,3)**
2. **Georgescu, I. A.**, Georgescu Margarint, E. L., Carmen-Denise-Mihaela, Z., Zagrean, A.-M., & Zagrean, L. (2020). Cognitive and Affective Disorders Associated with Dysfunctional Cerebello-Limbic-Prefrontal Circuits. *Physiology*, *30*(1), 4–8. [http://revista_fiziologia.umft.ro/archives/Fiziologia_nr1\(99\)_2020A46art42pagv3.pdf](http://revista_fiziologia.umft.ro/archives/Fiziologia_nr1(99)_2020A46art42pagv3.pdf) **(B+, ISSN 1223-2076)**
3. Georgescu Margarint, E. L., **Georgescu, I. A.**, Zahiu, C.D.M., Steopoaie, A. R., Tirlea, S.A., Popa, D., Zagrean A-M and Zagrean L. (2020). Reduced Interhemispheric Coherence after Cerebellar Vermis Output Perturbation. *Brain Sciences*. *10*:621. doi:10.3390/brainsci10090621. **(ISI, Factor de impact: 3,3, co-prim autor)**
4. Georgescu EL, **Georgescu IA**, Zahiu CDM, Șteopoaie AR, Morozan VP, Pană AȘ, Zăgrean A-M and Popa D (2018) Oscillatory Cortical Activity in an Animal Model of Dystonia Caused by Cerebellar Dysfunction. *Front. Cell. Neurosci.* *12*:390. doi: 10.3389/fncel.2018.00390. **(ISI, Factor de impact: 4,3, co-prim autor)**
5. Frontera, J., Aissa, H. B., Sala, R. W., Mailhes-Hamon, C., **Georgescu, I. A.**, Léna, C., & Popa, D. (2020). Bidirectional control of fear memories by the cerebellum through the ventrolateral periaqueductal grey. *Nature Communications*, *11*(5207), 1–17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41467-020-18953-0>. **(ISI, Factor de impact: 12,1)**