

# Kortex linbikoren proiektzioa zubiko nukleoetara untxietan

**Angel Bidaurrezaga eta Jon Jatsu Azkue**

Neurozientzietako Saila. Medikuntza eta Odontologi Fakultatea.

Euskal Herriko Unibertsitatea

## *Abstract*

*In the present study, we have used a metabolic tracer to show the connexion between the limbic cortex and the basilar pontine nuclei in the rabbit.*

*It is well known that pontine nuclei are in the middle of the cortical way to the cerebellum cortex, where integrates information from motor, somatosensorial and visual cortex. We have found that the limbic cortex projects to peduncular and paramedian nuclei mostly in the rostral third and in the lateral and ventral nuclei in the whole basilar pontine nuclei. These results allows us to confirm the cerebellum integrates signals from limbic structures.*

## **Laburpena**

Ikerketa honetan, markatzaile metabolikoen bidez untxietako kortex linbiko eta zubiko nukleoaren arteko konexioa ikusi dugu. Ezaguna da garuna eta zerebeloaren arteko bide-erdian zubiko nukleoak daudela, kortexaren area ezberdinetako (motoreko, ikusmeneko, somatosentso-rialeko) informazioa integratzeko. Gure emaitzek erakusten dutenez, kortex linbikoak zubiko errostraherenean nukleo pedunkularra eta paramedianora proiektatzen duen bitartean, zubi osoan alboko nukleoetara eta nukleo bentralera proiektatzen du. Beraz, zerebeloak kortex linbikotik ere informazioa jasotzen duela baieztatu dezakegu.

## SARRERA

Zubiko Nukleo Basilarra (ZNB) trukagune gisa hartu izan da, garun eta zerebelo arteko konexioan. Bertan goitik edo behetik etortzen den informazio zabala integratzen da zerebeloko kortexera bidali aurretik (gehiago jakiteko irakur Brodal eta Bjaalie, 1992). ZNB zerebeloko kortex eta nukleo sakonetara proiektatzen du, garuneko kortexeko V. geruzako neuronen eferenteak hartzen dituztelarik (Brodal 1979, 1987; Mihailoff 1981, 1983; Glickstein eta lag. 1985; Jones eta Wise 1977; Albus eta Oliver 1981; Kamamura eta Chiba 1979; Legg eta lag. 1989; Mercier eta lag. 1990). Beraz, beharrezkoa da zubiko nukleoen egitura ezagutzea zerebeloak nola funtzionatzen duen jakiteko. Espezie ezberdinen arabera, garuna eta zubi arteko lotura ezberdina izaten da. Azken ikerkuntzek diotenez, zubia txanda-leku soila baino gehiago izan daiteke. Markatzaile metabolito atzerakoiekin egindako ikerketek erakutsi dutenez, neurona kortikopontinoak kortexko area ezberdinetan agertzen dira: motorean, ikusmenean, somatosensorialean eta zingularrean. Besetik ikusi denez, garuna zenbat eta gehiago bilakatu hainbat eta eremu zabalagoa du kortex eta zubi arteko komunikazioak (Brodal 1982; Glickstein eta lag. 1985; Schmahman eta Pandya 1991; Weisendanger eta Weisendanger 1982a, b).

Brodal eta Jansenek (1946) asmatutako zubi-nukleoen sailkapena erabiliko dugu deskribapena errazteko, nahiz eta haien artean muga zehatzik ez dagoen. Autore horiek ZNB sei nukleotan banandu zituzten: alboko dortsala, albokoa, bentrala, pedunkularra, paramedianoa eta nukleus reticularis tegmenti pontis izenekoetan.

Sailkapen hau aparte, untziko neokortexaren mapa zitoarkitektonikoa (Fleisch-

hauer 1980) erabili dugu, area linbikoa (edo Area Retroesplenialis Granularis Dorsalis) kokatzeko. Mapa hau Roseren (1931) maparen hobekuntza da, aldaketa gutxi batzuk dituelarik. Lehenago untxietan kortikopontino linbikoa ikertu duen bakarra Abdel-Kader izan da, baina bere lesioak linbikoa baino eremu zabalagoetara zabaltzen zituelako (gorputz kaikulara, fornix, eta abarretara) guk erabilitako *prozedura* esperimentala zehatzagoa dela esan dezakegu.

## MATERIALA ETA METODOAK

Hamaika untxi albino heldu erabili ditugu, New Zealand arrazakoak. Pisua 2-3 kg bitartekoa zuten. Medikuntza Fakultateko ukuiluan hazi dira bizitza-egoera normalean: 12 orduko argitasun/iluntasun-zikloetan eta janaria noiznahi hartzeko aukerarekin.

### *Prozedura esperimentalak*

Gure saiakuntza-metodoa garunean *WGA-HRP (wheat-germagglutinated horseradish peroxidase)* markatzailea geldo txertatuz hasi zen; interesatzen zaigun area linbikoan, hain zuzen. Mikroinjekzio guztiak garunaren ezker aldean egin ziren. Hango kortexeko neuronek markatzailea zurgatuz, WGA-HRP eraman zuten zubian dauden axoi bukaeretaraino. Markatzaile hura agertzeko *TMB (tetramethylbenzidine)* kromogena erabili genuen.

### *Prozedura kirurgikoak*

Monteroren metodoa erabiliz anestesiatu ziren animaliak. Lehenengo ketamina hidrokloridrikoarekin (50 mg/ml ur *distilatuan*, 0.8 mg/kg pisu-dosia) muskulu-barneko injekzio bat, eta bost minutu geroago ureta-

no (% 20 ur distilatuan, 0.75 g/kg pisu-dosia) peritoneo-barneko beste injekzio bat. Animalia bakoitza burua finkatzeko aparatu batean kokatzen zen, ondoren ile-larruari ebaketa sagitala egiteko. Garezurrera heltzeko muskulu epidurala eta tenporalak kendu egin ziren. Bertan zulo karratua (2 cm x 1 cm) kontu handiz egiten zen, goiko altzo benosoa ukitu barik. Trepanazioaren ondoren, duramaterria ebakitzen zen.

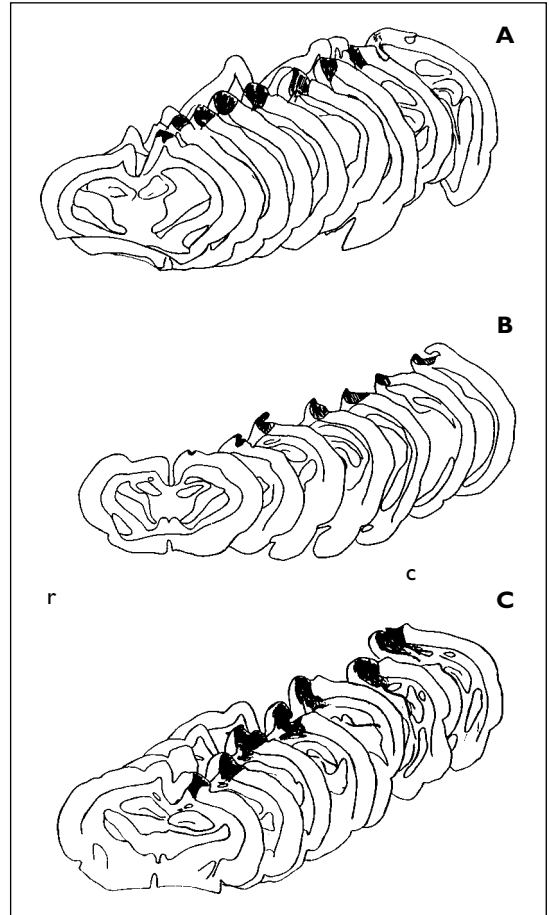
### Mikroinjekzioa

Mikropipeta bat egiteko beirazko kapilar bat hausten zen eta Hamilton orratzari itsasten zitzaion parafinarekin. Aire-presioko sistema bat erabili zen WGA-HRP injektatzeko cm bateko sakonerakin eta bere bolumena 0,02-0,06 ml bitartekoa zen. Hau egin eta gero, hamar minutu utzi zen difusio ona edukitzeko area linbikoan (ikus 1. irudia). Hiru edo lau injekzio sartu ondoren, burezur-zatia berriro bere lekuan ipini eta larrua josita bukatu genuen ebaketa.

### Prozedura histologikoak

48 ordu igaro ondoren animaliak perfunditu egiten ziren. Untxi bakoitzari ketamina eta uretanoren sobredosi bat jartzen zitzaien. Perfusiorako suero fisiologikoa ziztatzzen aortatik gorputza garbitzeko. Bigarrenez likido finkatzailea (praformaldehidoa % 1 eta glutaraldehidoa % 4 buffer fosfatoan). Minutu batez garbitu ondoren, finkatzailea ordu erdiren batez lagatzen genuen. Burezurretik garuna ataritzen da eta % 30 buffer sakarosan sartzen da bi egunez.

Garuna eta zubiak ebaki egin ziren 50 mikrako lodieraz kriotoma batean. Zubiko



1. irudia. Injekzio-puntuak kortex linbikoan. C kasuan perisoidasa zabalduagoa dago beste kasuekin konparatuz.

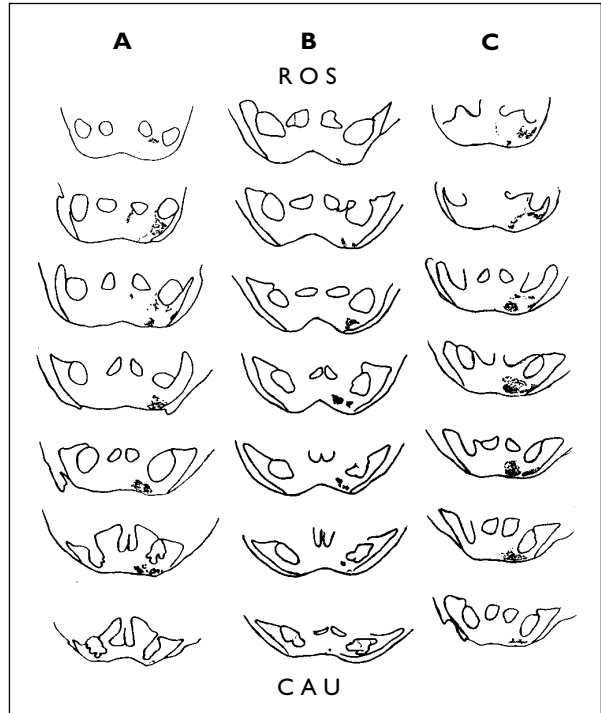
atal guztiak bildu ziren erreazio histokimikorako, baina garunekoetan hirutik bat bakarrik gordetzen zen.

Ebakitako lagin guztiak TMBrekin prozesatu ziren (Gibson etab., 89). Ebakitako laginak beiraren gainean jarri ziren. Serie bi erabili ziren bi bide desberdinetarako: bata deshidratatzeko eta bestea gorri neutroarekin kontrastatzeko.

## EMAITZAK

Kortex linbikoaren proiektzio-eredua nahiko berdintsua izan da guk ikeritutako kasuetan. Proiektzio guztiak ipsilateralak dira. Zubia goitik behera hiru herenetan zatitzen badugu, emaitzak honela agertzen dira:

- Errostro-herenean, lehenengo terminal-bukaera markatuak agertzen dira: nukleo Paramedianoa (PM), Alboko nukleoa (A) eta nukleo Pedunkularra (P) (ikus 2. irudia eta 3. irudiko B argazkia). Azken nukleoa gehienetan heren honetan agertzen da, erdiko lemniskoa eta pedunkulu zerebralaren artean. Nukleo bentrala (B) behe-rago agertzen da. A nukleoa, xafllaitxura duena (ikus 3. irudiko D argazkia), bi ataletan banatzen da heren honen bukaeran: albo-ko eta erdiko ataletan (ikus 2. irudia).
- Erdiko herenean, B nukleoa besteak baino handiagoa da (ikus 2. eta 3. irudiko C argazkia). A nukleoa bi ataletan agertzen da, erdikoa desagertzen doa eta albokoa mantentzen da, B nukleora hurbiltzen delarik (ikus 2. irudia). Nukleo PM B eta A nukleoaren artean kokatzen da (ikus 3. irudiko A argazkia). Honek itxura luzeska du eta kasu honetan bukatzen da.
- Heren kaudalean, B nukleoa azkenekoa da desagertzen (ikus 2. irudia). Kasu batzuetan bukaeran batzuk agertzen dira PM nukleoan.

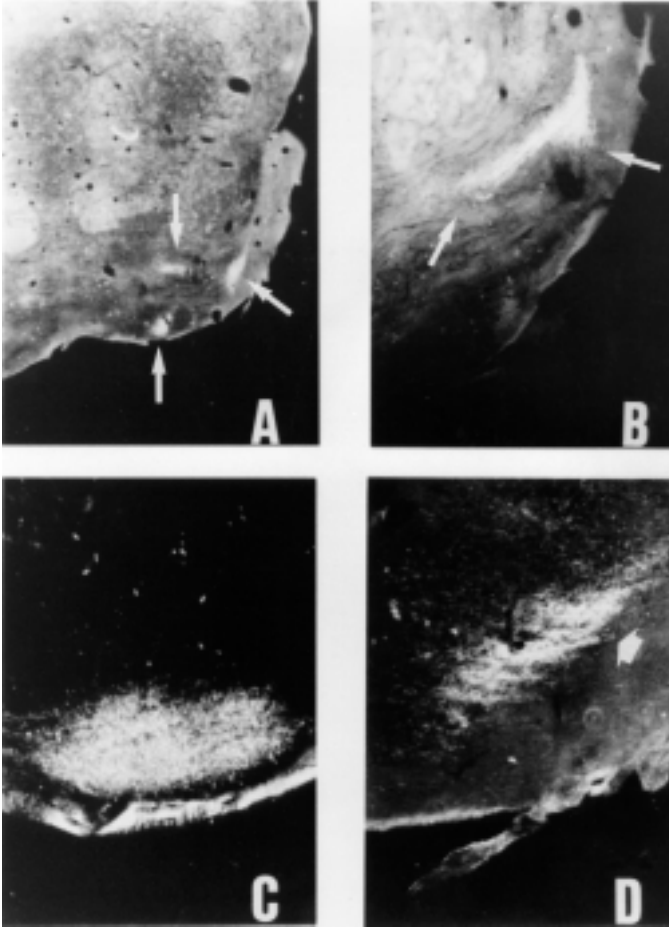


**2. irudia.** Proiektzio-bukaerak zubiko nukleoetan. Errostro-herenetik kaudaleraino. Nukleo Bentrala argi markatuta dago hiru kasuetan, eta nukleo Paramedianoa ondo agertzen da A eta C kasuetan errostro eta erdiko herenetan. Alboko nukleoa argia da hiru kasuetan eta bere banaketa ondo agertzen da C kasuan. Nukleo pedunkularra errostro-herenean agertzen da A eta C kasuetan.

Talamoan bukera batzuk agertzen dira alboko nukleo bentralean.

## EZTABAIDA

Ikerketa honetako aurkikuntza nagusia kortex linbikoak zubia ipsilateralki proiektatzea da. 1968. urteaz geroztik Abdel-Kaderren untxien sistema kortikopontinotari buruz egindako ikerketaren ondorioz, badakigu sistema linbikoak garrantzi han-



**3. irudia.** Mikroargazkiak, argi polarizatuarekin eginak. A argazkian zubiko ikuspegi orokorra erakusten da, hiru nukleoekin: bentral, alboko eta paramedianoarekin. B argazkian alboko nukleoa eta pedunkularra ikusten dira errostro-herenean. Nukleo bentral eta alboko nukleoa erdiko herenean (C eta D argazkiak). Ikus B nukleoan bukaerek dentsitate handia dutela eta A nukleoak itxura laminarra duela.

dia duela zubiko proiektioetan. Bere Nautaren degeneraziozko metodoarekin eginda zegoenez, lesio kortikal eta ez kortikalez aparte, markatzaile metabolikoaz egindako

bentralago agertzen da. Abdel-Kaderen emaitzekin konparatuz, hark alboko nukleoaren alde bentromedialetan bakarrik ikusi zuen proiektio hau.

ikerketa zehatzagoa dela pentsatzen dugu, kortez linbikotik zubira doazen zuntzak ikertzeko.

**Proiektzio linbikoa nukleo Paramedianora.** Abdel-Kaderrek nukleo honen 2 heren kaudaletan bakarrik kokatzen zituen axonen bukaerak. Gure emaitzetan aldiz, errostro-herenean ere agertzen dira.

**Proiektzio linbikoa nukleo pedunkularrera.** Gure emaitzekin bukaerek errostro-herenean heren agertzen direla baieztatu dezakegu; erdiko lemniskoa eta pedunkulu zerebralen artean, hain zuzen. Baina Abdel-Kaderren kasuetan ez bezala, ez dira bukaera gehiago agertzen zubiko beste herenetan.

**Proiektzio linbikoa alboko nukleora.** Gure emaitzen arabera nukleo hau besteak baino errostralagoa da, errostro-herenean agertzen da eta erdiko herenean bi ataletan banatzen da: erdiko eta bata eta alboko besteak. Hau heren kaudaleraino mantentzen da, bertan erdiko atala desagertu egiten delarik, eta alboko atala

**Proiektzio linbikoa nukleo bentralera.** Abdel-Kaderrek B nukleoaren maila dortsaletan bakarrik ikusi zuen. Gure kasuetan proiektzioa B nukleo osoan eta zubi osoan ikusten da, itxura triangeluarra mantenduz. Kasu guztietan B nukleoa desagertzen azke-na da.

Katuetan (Brodal 1991) zubiko nukleotarako proiektzio zingularrak ikertu dira. Giro zingularreko leku ezberdinetan txertatuz, beren zuntz-bukaerek banda estu bat osotzen zuten zubiko alde bentromedialean. Ikusi zuten zuntz teilakatzeari dago proiektzio hau eta zerebeloko nukleo bentral paraflo-xuloseetik datozen zelulen artean.

Arratoietan (Wiesendanger eta lag., 1982) esplenioesteko kortexetik (bikortikatua izan ala ez) proiektzioa apala da zubiko errostro-herenean, eta pixka bat erdiko kontralateralean. Proiektzio hau nabariagoa da injektzio-puntuak aurrerago aurkitzen badira. Lehenago egindako ikerketekin ados daude; bai ikerketa degeneratiboekin (Domesick, 1969) eta bai ikerketa autorra-

diografikoekin (Beckteak, 79). Kortex agularren proiektzioan kanpoko marjina bat hartzen du, eta zenbait kasutan kontralaterala da.

Nahiz eta Brodalek 78an tximinoetan zingulu-proiektziorik ikusi ez, Vilenski eta Van Hoensen-ek (81) proiektzio hori aurkitu zuten, eraztun-itxurarekin errostro-herenean. Gutxiago nabaritzen zen alde kaudaletan. Beren iritziz eferente linbikoek garrantzia eduki dezakete jarrera motoreko zirrarako eraginean.

Saiakuntza elektrofisiologikoetan baieztatu denez, zerebeloko kortexak erantzuten du arratoietako fornixa estimulatutakoan (Saint-Cyr eta Woodward, 1980) a, b). Erantzun hauek kortex zingularrak eta zubiko nukleoek bideratzen dituzte. Bermiseko IV-VII lobuluetan, hau da erantzunak izaten diren lekuetan, zubiko kanpoko marjinatik datorkio (Azizi eta lag., 1981), hau da, kortikopontinoko proiektzio linbikora doan gune berdinetara. Beraz, sistema linbikoak eragina du zerebeloko funtzio motorean zubiko nukleo bidez.

## BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Kader, G. A. (1968) The organization of the cortico-pontine system of the rabbit. *J. Anat.* 102: 165-181.
- Albus, K., Doñate-Oliver F., Sanides, D. and Fries, W. (1981) The distribution of pontine projection cells in visual and association cortex of the cat: An experimental study with Horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 201: 175-189.
- Azizi, S. A., G. A. Mihailoff, R. A. Burne, and D. J. Woodward. (1981) The pontocerebellar system in the rat: An HRP study. I. Posterior Vermis. *J. Comp. Neurol.* 197: 543-558.
- Beckstead, R. M. (1979) An autoradiographic examination of corticocortical and subcortical projections of the medio-dorsal-projection (prefrontal) cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 184: 43-62.
- Brodal, A., and Jansen J. (1946) The ponto-cerebellar projection in the rabbit and cat. *J. Comp. Neurol.* 84: 31-118.

- Brodal, P. (1978) Principles of organization of the monkey corticopontine projection. *Brain Res.* 148: 214-218.
- Brodal, P. (1978) The corticopontine projection in the rhesus monkey. Origin and principles of organization. *Brain* 110: 251-283.
- Brodal, P. (1979) The pontocerebellar projection in the rhesus monkey; an experimental study with retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Neuroscience* 4: 193-208.
- Brodal, P. (1982) The cerebropontocerebellar pathway: salient features of its organization. in: Chan-Palay V, Palay S (eds) *The Cerebellum- New Vistas*. Experimental Brain Research Suppl 6. Springer-Verlag, BerlinHeidelberg, pp 108-132.
- Brodal, P., Bjaalie, J. G. and Aas. J. E. (1991) Organization of cinguloponto-cerebellar connections in the cat. *Anat. Embryol. Berl.* 184 (3): 245-254.
- Brodal, P. a. B., J. G. (1992) Organization of the pontine nuclei. *Neuroscience Research* 13: 83-118.
- Domessick, V. B. (1969) Projections from the cingulate cortex in the rat. *Brain Res.* 12: 296-320.
- Fleischhauer, K., Zilles K. and Schleicher, A. (1980) A Revised Cytoarchitectonic Map of the Neocortex of the Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Anat. Embryol.* 161: 121-143.
- Gibson, A., D.I. Hansma, J.C. Houk and F. R. Robinson (1984) A sensitive low artifact TMB procedure for the demonstration of WGA-HRP in the CNS. *Brain. Res.* 298: 235-241.
- Glickstein, M., May J. G. II and Mercier, B.E. (1985) Corticopontine projection in the macaque: the distribution of labelled cortical cells after large injections of horseradish peroxidase in the pontine nuclei. *J. Comp. Neurol.* 235: 343-359.
- Graham, R. W., Mervyn J. Hardiman and Christopher H. Yeo (1989) Visual Projections to the Pontine Nuclei in the Rabbit: Orthograde and Retrograde Tracing Studies With WGA-HRP. *J. Comp. Neurol.* 279: 629-652.
- Jones, E. G. a. W., S.P. (1977) Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys. *J. Comp. Neurol.* 175: 391-438.
- Kawamura, K. a. C., M. (1979) Cortical neurons projecting to the pontine nuclei in the cat. An experimental study with the horseradish peroxidase technique. *Exp. Brain Res.* 35: 269-285.
- Legg, C. R., Mercier, B. and Glickstein M. (1989) Corticopontine projection in the rat: the distribution of labelled cortical cells after large injections of horseradish peroxidase in the pontine nuclei. *J. Comp. Neurol.* 286: 427-441.
- Mercier, B. E., Legg, C.R. and Glickstein, M. (1990) Basal ganglia and cerebellum receive different somatosensory information in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 4388-4392.
- Mihailoff, G., Burne, R.A., Azizi, S.A., Norell, G. and Woodward, D.J. (1981) The pontocerebellar system in the rat: an HRP study. II. Hemispherical components. *J. Comp. Neurol.* 197: 559-577.
- Mihailoff, G. (1983) Intra- and interhemispheric collateral branching in the rat pontocerebellar system, a fluorescence double-label study. *Neuroscience* 10: 141-160.

- Saint-Cyr, J. A. a. D. J. W. (1980a) Activation of mossy and climbing fiber pathways to the cerebellum cortex by stimulation of the fornix in the rat. *Exp. Brain Res.* 40: 1-12.
- Saint-Cyr, J. A. a. D. J. W. (1980b) A topographic analysis of limbic and somatic inputs to the cerebellar cortex in the rat. *Exp. Brain Res.* 40: 13-22.
- Schamahmann, J. D. a. P. D. N. (1991) Projections to the basis pontis from the superior temporal region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 308: 224-248.
- Thangnipon, W., Taxt, T., Brodal, P. and Storm-Mathisen, J. (1980) Glutamate (Glu) and aspartate (Asp): transmitters in the corticopontine pathway? *Neuroscience Letters* 23: 181-186.
- Vilensky, J. A. a. G. W. V. H. (1981) Corticopontine projection from the cingulate cortex in the Rhesus Monkey. *Brain Res.* 205: 391-395.
- Wells, G. H., Hardiman, M.J. and Yeo, C. H. (1989) Visual projections to the pontine nuclei in the rabbit: Orthograde and retrograde tracing studies with WGA-HRP. *J. Comp. Neurol.* 279: 629-652.
- Wiesendanger, R. a. M. W. (1982) The Corticopontine System in the Rat. I. Mapping of Corticopontine Neurons. *J. Comp. Neurol.* 208: 215-226.
- Wiesendanger, R. a. W., M. (1982) The Corticopontine System in the Rat. II. The Projection Pattern. *J. Comp. Neurol.* 208: 227 -238.
- Wise, S. P. a. J. E. G. (1977) Cells of origin and terminal distribution of descending projections of the rat somatic sensory cortex. *J Comp Neurol* 175: