



166
2ej
 Ψ

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Psicología

**Cambios de Largo Plazo
en la Comunicación Sináptica en
la Vía Córtico-Talámica**

Tesis, que para obtener el título de:
Licenciado en Psicología, presenta:

Araxi Urrutia Odabachian

Director de tesis:

Dr. Federico Bermúdez Rattoni

Revisor:

Dr. Arturo Bouzas Riaño

Miembros del Jurado:

Dr. Flavio Mena Jara

Mtro. Gustavo Bachá Méndez

Dra. Martha Escobar Rodríguez

México, DF a 10 de Septiembre de 1999

**TESIS CON
FALLA EN**

27 90914



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A black and white micrograph showing several neurons with prominent cell bodies and extensive, branching dendrites and axons. The neurons are stained against a dark background. The title is centered over the middle of the image.

Cambios de Largo Plazo
en la Comunicación Sináptica en
la Vía Córteo-Talámica

*A mis compañeros de generación
Raúl Hernández Espinoza y
Ranier Gutiérrez Mendoza
les deseo mucha suerte.*

La conclusión de las asignaturas, el trabajo experimental presentado, la realización de los trámites necesarios así como otros eventos que hicieron posible la impresión y presentación de esta versión final del trabajo de tesis, involucró a muchas personas, algunas tan decisivas que sería imposible dejar de mencionarlas.

A lo largo de los semestres cursados en la Facultad de Psicología en la Universidad Nacional Autónoma de México, conté con el constante apoyo de amigos, profesores y autoridades administrativas. A lado de Eduardo Marroquin, Eduardo Molina, Carlos Concha, Leobardo Durón y Marco Antonio Bonaparte, representantes de la Alternativa Académica y/o parte de la unidad de cómputo en la facultad, fui capaz de mirar en los tejidos de las políticas académicas y de otros tipos, e intentar cambios que hoy considero un poco más difíciles de lo que entonces parecían. El paso por los difíciles procesos de inscripción hubiese tenido un final muy distinto de no ser por el apoyo de la Lic. Alicia Velázquez y posteriormente la Lic. Aurora Saavedra a quien además debo el éxito de otros trámites claves para la titulación. La acreditación de gran parte de las asignaturas la debo a los maestros y maestras de la Facultad de Psicología, cuya infinita paciencia y comprensión respecto a las asistencias y fechas de entrega de trabajos, evitaron tragedias académicas que lamentaría hasta el día de hoy. De ellos quisiera mencionar a la Lic. Adela Mendoza hacia quien siento gran admiración y para quien deseo lo mejor en el nuevo camino que ha tomado, por haberme mostrado la psicología en un sentido científico; al Dr. Florente López por enseñarme que la psicología puede ser una ciencia metodológicamente rigurosa; y, al Mtro. Víctor Ramírez, por mostrarme una de las disciplinas de investigación más fascinantes y acercarme al laboratorio de neurociencias a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni quien me permitió actuar con libertad.

La atención prestada por el Mtro. Miguel Herrera hizo del servicio social una experiencia formativa, sin embargo, tanto la elección del programa, así como todos los trámites intermedios hasta el término del mismo, son obra del Mtro. Alfredo Muñoz García, a quien además debo asesorías y entretenidas pláticas, así como una de las asignaturas más interesantes de la carrera. Si el tema de este trabajo no se encuentra dentro del campo de la psicología social, es sólo por la falta de aptitud que percibo en mí para ello.

En el periodo como estudiante de intercambio, en el Departamento de Biología de la Universidad de McGill recibí el apoyo de las autoridades y profesores de la institución, en especial del Dr. Ronald Chase y el Dr. Ken Hastings quienes creyeron en mí; al segundo de ellos, le debo, además, el acercarme a uno de los campos más interesantes de la biología. Durante la estancia en el Instituto Neurológico de Montreal, el Dr. Angel Alonso jugó un papel muy importante, le debo entre otras cosas, mi asistencia a un congreso de neurociencias en Los Angeles. Su confianza y su apoyo continuaban ejerciendo gran influencia. El trabajo experimental aquí presentado, se llevó a cabo en el laboratorio del Dr. Manuel Castro a quien debo el planteamiento inicial del proyecto y el aprendizaje de la técnica de registro. Sin embargo, de no haber contado con el apoyo y la amistad de los estudiantes del séptimo y octavo piso del Instituto Neurológico de Montreal particularmente del Mtro. Li Ma y la Dra. Maria Elisa Calcagnotto, y las letras a la distancia del Dr. Humberto Gutiérrez que me aclaraban dudas sobre el universo y la naturaleza humana, el término de la obtención de datos habría sido, sin duda alguna, un evento improbable.

Este trabajo de tesis se ha enriquecido con las observaciones que se le han hecho: parte de los datos del segundo experimento fueron analizados por Avedis Urrutia Odabachian; La revisión del manuscrito original fue realizada por Jazmin Odabachian Bermúdez y posteriormente por el Dr. Federico Bermúdez Rattoni, director del proyecto. Esta impresión final incluye los acertados comentarios de los sinodales Dr. Flavio Mena Jara, Mtro. Gustavo Bachá Méndez y Dra. Martha Escobar Rodríguez así como del revisor de tesis Dr. Arturo Bouzas Riaño, quien además de aceptarme en el programa de servicio social a su cargo me brindó su apoyo para la revalidación de los créditos obtenidos en la universidad de McGill y para la presentación del examen profesional a pesar de la difícil situación que actualmente enfrenta nuestra universidad.

El Dr. Jaime Urrutia Fucugauchi y el Dr. Dante Morán Centeno constituyeron siempre un apoyo en los laberintos burocráticos de la universidad.

Araxi Urrutia

Índice

-Resumen.....	1
-Abstract.....	3
Introducción:	
-Plasticidad sináptica: LTP y LTD.....	5
-LTP y Aprendizaje.....	29
-Sistema tálamo-córtico-talámico.....	41
-Planteamiento del problema.....	59
-Objetivos.....	61
 -Caracterización de cambios plásticos de largo plazo en la vía córtico-talámica	
-Método.....	62
-Resultados.....	87
-Conclusiones.....	104
 -Dos vías, dos mecanismos: LTP y LTD en vías córtico-talámicas y CA1 en el hipocampo	
-Método.....	107
-Resultados.....	115
-Conclusiones.....	129
-Conclusiones Generales.....	132
-Comentarios.....	141
-Referencias.....	144

Plasticidad Sináptica de Largo Plazo en la Vía Córtico-Talámica

Araxi Urrutia Odabachian;
Tesis de licenciatura presentada a: Facultad de Psicología,
Universidad Nacional Autónoma de México (1999).

Resumen

El estudio de las propiedades plásticas de las distintas vías de comunicación sináptica en el cerebro, es de particular importancia para entender el funcionamiento del sistema nervioso, tanto en el almacenamiento de información, como para la generación de comportamiento. El tálamo es la principal entrada de información sensorial hacia la corteza, y ambas estructuras se encuentran ampliamente interconectadas. A pesar de los avances en la caracterización anatómica de esta comunicación, las características fisiológicas de estas vías han sido poco estudiadas.

El presente trabajo, da cuenta de los resultados obtenidos en un estudio electrofisiológico, en las vías que van de la capa V de la neocorteza hacia el tálamo ventrobasal (córtico-talámicas). El propósito de este estudio fue identificar fenómenos de plasticidad sináptica de largo plazo, como los caracterizados previamente en otras vías del sistema nervioso.

El trabajo experimental se realizó utilizando la técnica de registro de potenciales de campo, en secciones de cerebro de ratones de la línea balb-c. Se registro la respuesta sináptica de las células talámicas, ante la estimulación de sus aferentes corticales,

antes y después de la aplicación de trenes de 600 pulsos de corriente con distintas frecuencias (1hz, 3hz, 10hz, 30hz, 100hz).

Los resultados obtenidos mediante el diseño experimental utilizado, muestran cambios persistentes en la respuesta sináptica. Los cambios encontrados fueron de dos tipos: una depresión de la respuesta ante la frecuencia de 1hz, y una clara potenciación con frecuencias de 10hz o más altas.

La relación entre la frecuencia utilizada y el cambio inducido, difiere con lo reportado anteriormente para la vía colateral de Schaffer en el hipocampo, la vía en la que estos tipos de plasticidad han sido más ampliamente estudiados. Mediante la realización de registros simultáneos en ambas vías se demostró que la discrepancia es atribuible a diferencias en las propiedades plásticas de las dos vías.

Los datos reportados en este trabajo son consistentes con la evidencia de que los cambios en la eficiencia de la comunicación sináptica pueden inducirse en diversas vías del sistema nervioso. Esto apoya la idea de que este tipo de cambios son comunes en las diversas vías de conexión entre las estructuras del sistema nervioso y no privativas de unas cuantas estructuras generalmente asociadas con aprendizaje.

Con base en las características de los cambios observados en la vía córtico-talámica, sus diferencias y similitudes con otras vías previamente caracterizadas, se discuten los mecanismos moleculares que podrían subyacer a los cambios aquí reportados.

Long Term Synaptic Plasticity in the Cortico-Thalamic Pathway in Mice Brain Slices

Thesis presented by **Araxi Urrutia Odabachian** to the
National University of Mexico to obtain a BS. degree (1999).

Abstract

The study of synaptic plasticity in the different pathways in the brain is fundamental to the understanding of the functioning of the central nervous system (CNS) allowing information storage and generation of behavior. The thalamus is the main access for sensory information to the cerebral cortex and both structures are highly interconnected. The anatomical features of the thalamic-cortical-thalamic system are fairly well known but the physiological properties of these pathways are not well characterised, long term forms of synaptic plasticity were not previously addressed.

An electrophysiological study was performed to assess if long term plasticity phenomena, previously reported for other pathways, could be induced in the projections from layer V in the neocortex to the ventrobasal thalamic nuclei. Field evoked synaptic potentials were recorded from isolated mice brain slices. After a brief base line, trains of 600 pulses at one of five possible frequencies (1hz, 3hz, 10hz, 30hz, 100hz) were applied and followed by base line conditions. The consequences of the trains of stimulation on the strength of synaptic communication were then analysed.

The results showed that persistent changes in synaptic strength can be induced in the cortico-thalamic pathway. Two types of changes were found: long term depression (LTD) after 1hz stimulation and long term potentiation (LTP) after repeated activation with 10hz or higher frequencies.

The relationship between the frequency of repeated stimulation and the changes induced differs from the reports for the Schaffer colateral pathway in CA1 region in the hippocampus, where long lasting synaptic changes have been studied for decades. Results from recordings performed simultaneously in the two pathways showed that the discrepancy could be attributed to differences in the plastic properties of the two pathways rather than to differences in experimental conditions.

The data presented in this work show that long term changes can be induced in the cortico-thalamic pathway. This is consistent with the evidence that favours that long lasting plasticity occur in a variety of pathways and not only in few structures generally associated with learning and memory processes, suggesting a broader role of LTP and LTD in the CNS function.

The possible molecular mechanisms are discussed, based on the particular characteristics observed in the data presented compared with other pathways where long term plasticity is well characterised.

Plasticidad sináptica: LTP y LTD

Plasticidad sináptica

Potenciación de largo plazo: LTP

Mecanismos moleculares de la LTP

Transcripción genética

Otros sitios

Depresión de largo plazo: LTD

Bidireccionalidad

PLASTICIDAD SINÁPTICA

El sistema nervioso no es una estructura estática, tiene la capacidad de expresar cambios estructurales y de funcionamiento en respuesta a las presiones ambientales a lo largo de la vida del organismo, lo que se conoce como plasticidad cerebral (Nieto-Sampedro, 1988; Brailowsky y Piña, 1991). En el cerebro, los millones de neuronas que contiene, forman innumerables conexiones sinápticas cuyo funcionamiento es modificable. La eficiencia de las sinapsis puede sufrir cambios en respuesta a variaciones importantes en sus patrones de actividad, es decir, que la historia de activación previa, ejerce influencia sobre la manera en que una célula responderá en el futuro ante la misma estimulación; a esto se le conoce como plasticidad sináptica (Hebb, 1949; Nieto-Sampedro, 1988; Bermudez-Rattoni, 1998).

En 1960 se contó con evidencia experimental de la ocurrencia de fenómenos plásticos en la comunicación sináptica. A

partir de registros electrofisiológicos intracelulares¹ de la actividad de motoneuronas del bíceps, Curtis y Eccles (1960), encontraron que tras la aplicación de una serie de pulsos de alta frecuencia, la respuesta sináptica se incrementaba durante un breve periodo de tiempo (desde segundos hasta cinco minutos). Además observaron que tanto el incremento en la respuesta, como la duración del efecto aumentan al incrementar la cantidad y la frecuencia de los pulsos y frecuencia con la que se administran.

LTP

Sin embargo no fue sino hasta el año de 1973, con los experimentos electrofisiológicos realizados por Bliss y Lømo (1973) en la vía perforante del hipocampo² (figura 1.2) en secciones de cerebro de conejo, cuando se describió cuán persistentes podían ser los cambios plásticos en la eficiencia sináptica. Observaron que la aplicación repetida de estimulación de alta frecuencia, conduce a un incremento en la respuesta sináptica y

¹ El estudio electrofisiológico de los cambios en la actividad sináptica consiste en el registro de los cambios de voltaje asociados con la comunicación interneuronal, tanto en el animal vivo como en secciones de tejido aisladas. En los registros intracelulares se registran los cambios de voltaje que ocurren dentro de una célula que se realizan introduciendo un electrodo de registro en el interior de esta.

² El hipocampo es una estructura del diencefalo. Forma parte del sistema límbico. Recibe información proveniente de diversas zonas de sistema nervioso principalmente a través de las proyecciones provenientes de la corteza entorrinal. Se le ha asociado con funciones de integración y con el almacenamiento de información con base en resultados obtenidos en estudios realizados en humanos y otras especies.

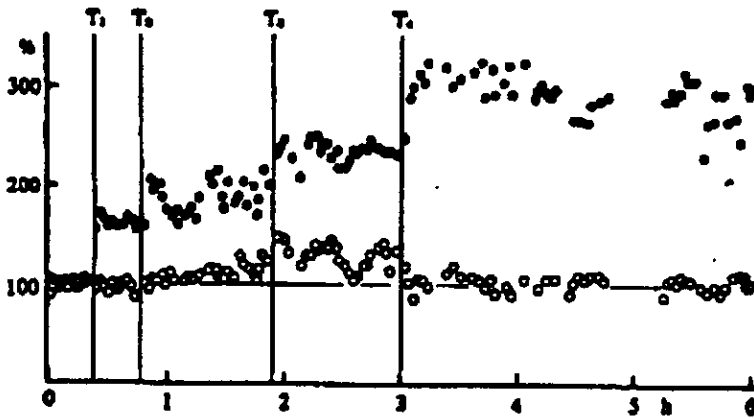


Figura 1.1. Registro en la vía perforante del hipocampo donde se indujo LTP. En la gráfica se muestran los valores de la amplitud de los potenciales sinápticos registrados de forma bilateral en la vía perforante. Después de la obtención de una línea base se aplicaron trenes de estimulación con una frecuencia de 15hz durante 10sec en la vía perforante en uno de los hemisferios, el otro hemisferio se muestra como control. Se puede apreciar un incremento persistente en el tiempo de la respuesta en el hemisferio en el que se aplicaron los trenes de estimulación. (Adaptado de Bliss y Lomo, 1973).

que este cambio es persistente en el tiempo, manteniéndose hasta por varias horas (figura 1.1).

A este incremento en la eficiencia sináptica, persistente en el tiempo, causado por la aplicación de estimulación repetida a alta frecuencia, se le conoce como potenciación a largo plazo (LTP, del inglés long term potentiation) (Bliss and Collindridge, 1993; Martinez and Derrick, 1996). Es precisamente su duración lo que lo aleja de otros tipos de plasticidad sináptica (ie. potenciación post-tetánica, potenciación de corto plazo) .

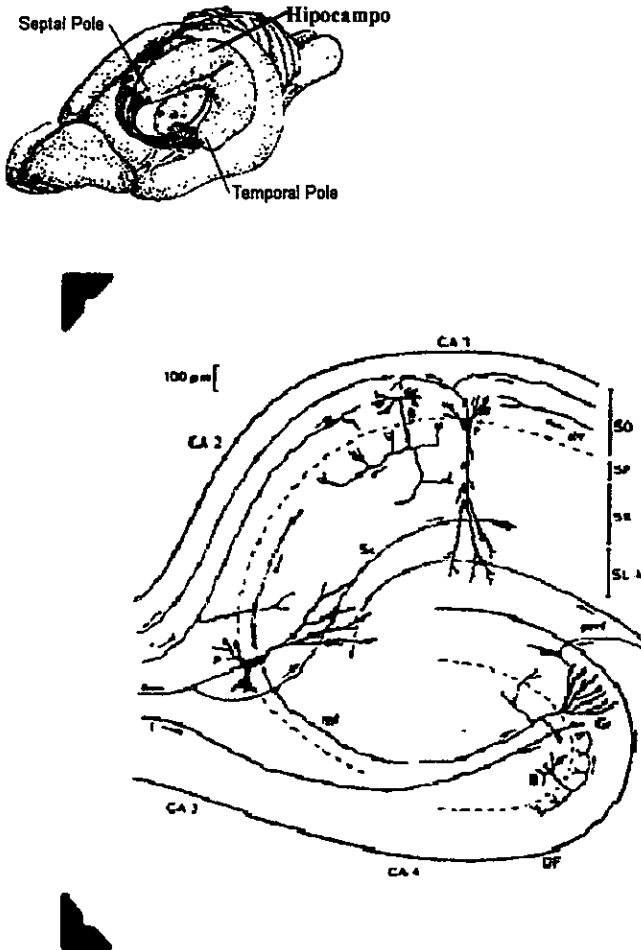


Figura 1.2. El hipocampo y sus principales vías. A. Forma de la estructura hipocámpal y su posición en el cerebro de rata. B. Principales grupos de neuronas y sus conexiones. En el esquema se representan las distintas zonas del hipocampo: giro dentado (Df), CA3 y CA1. Se distingue el circuito trisináptico que incluye tres vías: 1. Las capas II y III de la corteza entorrinal proyectan a las células granulares del giro dentado por medio de la vía perforante, 2. Las células granulares hacen conexión con las células piramidales de la región de CA3 a través de las fibras musgosas, 3. Finalmente las células de CA3 mandan proyecciones a las células piramidales de CA1 por medio de la vía colateral de Schaffer (Amaral y Witter, 1989; Witter, 1989).

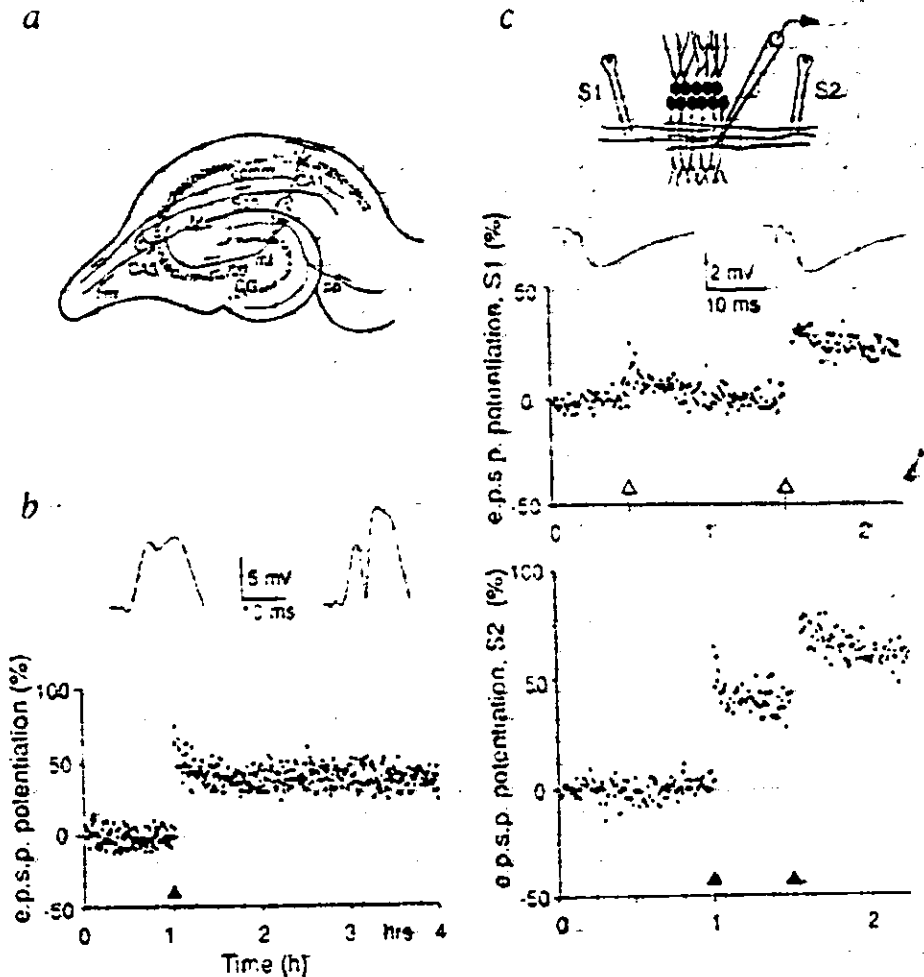


Figura 1.3: Propiedades del LTP. Cooperatividad, especificidad y asociatividad. a) En el diagrama se muestra el arreglo de los electrodos de estimulación en dos distintas vías en la región de CA1 cuyas terminales establecen conexiones en un área común de células, donde se colocó el electrodo de registro. El electrodo S1 genera estímulos de baja intensidad activando un número menor de fibras que el electrodo S2, el cual manda impulsos de mayor intensidad; b y c) Gráficas de la pendiente de las respuestas sinápticas respecto al tiempo (hrs.) ante la estimulación de S1 con baja intensidad (b) y S2 con alta intensidad (c). Las flechas muestran el tiempo en el que se aplicaron los trenes de estimulación. En b, se aprecia que la aplicación de la estimulación activando pocas fibras no resulta en LTP, mientras que la activación de S2 (c) produce una potenciación persistente, mostrando la cooperatividad. La inducción de LTP mediante la activación de la vía S2 no se observa en S1, donde no se aplicó, es decir, la potenciación es específica de la vía activada. La aplicación de estimulación tetánica de baja intensidad en S1 puede dar lugar a LTP si se aplica al tiempo en que se activa S2 con una intensidad alta, lo que demuestra la característica de asociatividad. (Adaptado de Bliss y Collingridge, 1993).

Características

Otros trabajos realizados hacia el final de la década de los 70's llevaron al descubrimiento de tres características de la LTP (Bliss and Collindridge, 1993; Malenka, 1994; figura 1.3). Primera; para el establecimiento del fenómeno LTP se requiere de la activación simultánea de un gran número de fibras nerviosas, a esta característica se le conoce como cooperatividad (McNaughton et al., 1978). Segunda; el fenómeno es específico de las vías activadas con el tren de estimulación, es decir, la comunicación sináptica no se modifica en vías no estimuladas (Andersen et al., 1977; Lynch et al., 1977). Por último, la LTP es asociativo; si se tienen dos vías cuyas terminales establecen conexiones con un mismo grupo de neuronas, y a una de ellas se aplica un tren de estimulación de baja intensidad que no resulta en una potenciación persistente, al tiempo en que se aplica una estimulación con una alta intensidad en la otra vía, ambas mostrarán LTP (McNaughton et al., 1978; Levy y Steward, 1979).

MECANISMOS MOLECULARES

Los mecanismos moleculares que subyacen al establecimiento y mantenimiento de la LTP han sido ampliamente estudiados en las vías hipocampales, particularmente en la vía colateral de Schaffer en la región de CA1. Las vías excitatorias en el hipocampo, como en muchas otras zonas del sistema nervioso

utilizan glutamato como neurotransmisor³ (Kennedy and Marder, 1992).

Los receptores, en las terminales postsinápticas, que responden a glutamato pueden clasificarse en: metabotrópicos en los que la activación da lugar a cascadas de transducción en el interior de la célula; y receptores ionotópicos los que al ser activados son permeables a iones que ingresan a la célula (figura

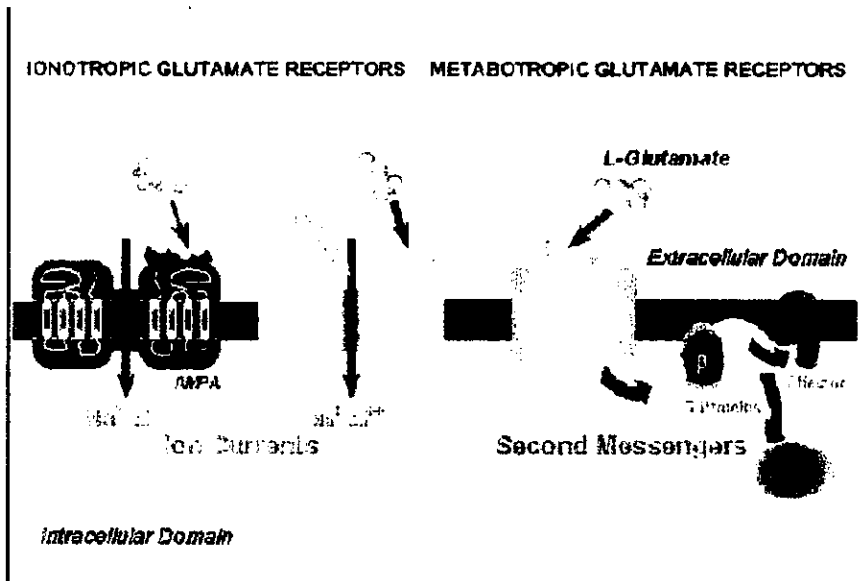


Figura 1.4. Receptores a glutamato ionotópicos y metabotópicos Los receptores ionotópicos al ser activados permiten la conducción de iones a través de la membrana. Los receptores metabotópicos desencadenan cascadas de transducción en el interior de la célula al ser activados. (Tomado de Tom Salt's Home Page, The Institute of Ophthalmology, University College London <http://www.ucl.ac.uk/~smgxt01/home.htm>)

³ En el sistema nervioso se utilizan diversas proteínas y pequeñas moléculas como neurotransmisores que se liberan en la terminal presináptica y activa receptores en la célula postsináptica en el sitio de la conexión.

1.4). Los receptores ionotrópicos se pueden clasificar en tres tipos de acuerdo con la activación selectiva de ellos ante distintos agonistas de glutamato: los receptores que responden a kainato, denominados kainicos; los que responden a α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazo-lepropionate (AMPA) y los que son activados por N-methyl-D-aspartate (NMDA).

Los receptores NMDA se han asociado con el fenómeno de LTP; experimentos realizados utilizando antagonistas como el AP5 de estos receptores que impiden su activación, evitan la inducción de LTP (Collingridge et al. 1983; Harris, 1984). Estos receptores se encuentran generalmente inactivos. Durante la actividad normal de las conexiones sinápticas, las terminales presinápticas liberan glutamato en el espacio extracelular, este neurotransmisor activa los receptores AMPA de la célula postsináptica, dando lugar a la entrada de sodio al interior de la célula. Los receptores NMDA, también responden a glutamato, pero se encuentran bloqueados por magnesio, lo que impide el intercambio iónico a través de ellos. Para eliminar este bloqueo, es necesaria la depolarización de la membrana, lo que ocurre por la entrada de iones a través de otros canales como los tipo AMPA (Nowak et al., 1984; Crunelly and Mayer 1984). Esto otorga a los receptores NMDA la propiedad de funcionar como detectores de la coincidencia, ya que se activan solo cuando se paree la actividad de la célula presináptica y la depolarización de la membrana en la célula postsináptica (Malenka, 1994; Bliss and Collindridge, 1993).

Los receptores NMDA tienen además la característica de que, al ser activados, permiten no solo la entrada de iones de sodio al interior de la célula, sino que también son permeables al calcio, (Ascher y Nowak, 1988; MacDermott et al., 1986; Jahr and Stevens, 1987). Es la entrada de calcio, a través de estos canales, y posiblemente a través de los canales de calcio dependientes de voltaje, lo que hace posible la ocurrencia de la LTP, al provocar cambios en el interior de la célula.

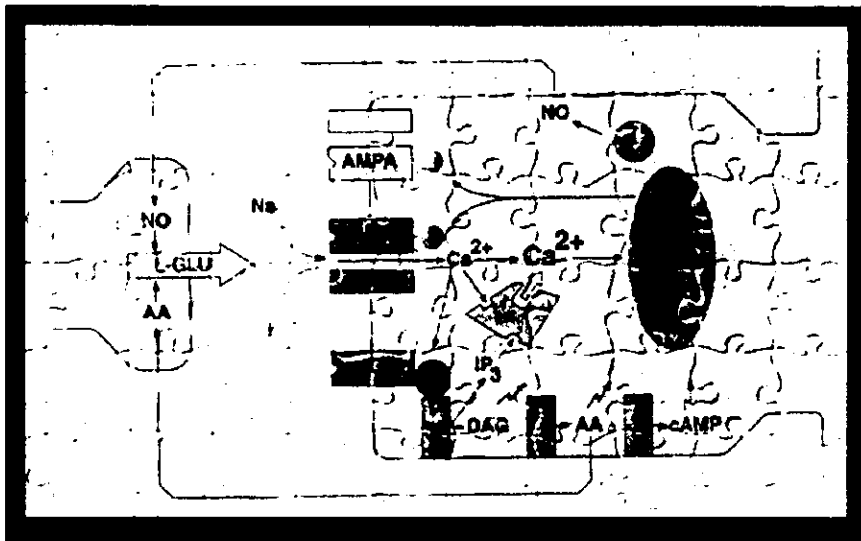


Figura 1.5. Modelo de cambios moleculares en la potenciación de largo plazo. La liberación de glutamato por la célula presináptica pareada con la depolarización de la célula postsináptica causa la activación de los receptores AMPA y NMDA. Los receptores NMDA permiten la entrada de sodio y calcio. El calcio activa la proteína calmodulina y la activación de las proteínas quinasas dependientes de calcio como PKA, PKC, CaMKs. Estas proteínas incrementan la excitabilidad de la célula a futura activación mediante la fosforilación de los canales AMPA. (Adaptado de Bliss and Collindridge, 1993).

En la presencia de quelantes de calcio (BAPTA o EGTA, por ejemplo), la activación de los receptores NMDA no produce una potenciación de largo plazo (Lynch et al., 1983). Sin embargo, el bloqueo de los canales NMDA o de la entrada y/o uso de calcio, no impide la expresión de la potenciación de largo plazo cuando ha sido previamente inducida (Malenka et al., 1992). La entrada de calcio al interior de la célula postsináptica, a través de los receptores NMDA, activa a la proteína citosólica llamada calmodulina, que funciona como una señal al activar distintas vías de transducción en el interior de la célula haciendo posible el mantenimiento del incremento en la eficiencia de la comunicación sináptica por periodos de tiempo prolongados, independientemente de los niveles de calcio (Kennedy y Marder, 1992).

En 1989, Robert Malenka et al. demostraron la importancia de las proteínas cinasas⁴ en la potenciación de largo plazo. Encontraron que la LTP se bloquea con la introducción de inhibidores de la actividad de las proteínas cinasas. Además que el mismo bloqueo se obtiene con el uso de inhibidores específicos de las proteínas cinasas dependientes de calcio.

Kennedy et al. (1990) mostraron el papel central que juega la proteína CaM-KII (calcium-calmodulin-dependent kinase II); mediante la introducción de antagonistas de esta proteína. Estos resultados fueron apoyados por experimentos realizados en ratones

⁴ Las proteínas cinasas se caracterizan por transferir un grupo fosfato a sus sustratos.

transgénicos en los que el gen codificador de esta proteína no era funcional. Sin embargo el papel que la proteína CaM-KII desempeña en el incremento de la eficiencia sináptica, fue apenas descrito en 1997 (Barria et al.), al demostrarse que su activación correlaciona con un aumento en los niveles de fosforilación de los receptores AMPA y que, el bloqueo de la actividad de esta proteína impide también el incremento en la fosforilación de los receptores AMPA. Con este trabajo fue posible plantear por primera vez un modelo de los cambios a nivel molecular que tienen lugar durante la inducción de LTP que permiten su mantenimiento al menos en el mediano plazo (figura 1.5).

Transcripción de proteínas.

Se ha demostrado que el mantenimiento de la LTP por periodos prolongados (mayores de una hora) es dependiente de la transcripción de proteínas (Nguyen, et al, 1994). Si se bloquea la transcripción de mRNA o la traducción a proteínas, el efecto de potenciación decae después de una hora; sin embargo, si el bloqueo se realiza después de la inducción de la potenciación, esta se mantiene durante la totalidad del registro, sugiriendo que la producción de proteínas para mantener el aumento de la fuerza sináptica ocurre en una determinada ventana de tiempo.

La búsqueda de cuáles son los genes que cambian sus patrones de expresión como resultado de la inducción de LTP, ha reportado algunos avances, Fazeli, et al. (1990) compararon los

geles obtenidos mediante electroforesis⁵ de tejidos en los que se había inducido LTP con tejidos ingenuos. Encontraron algunas diferencias entre los dos grupos, sus resultados mostraron que la inducción de LTP no solo provoca el aumento en la producción de ciertas proteínas sino también la inhibición de la producción de otras en las células nerviosas. Esta aproximación sin embargo tiene la desventaja de que es técnicamente difícil establecer la identidad de los genes sobre regulados o sub regulados.

La mayoría de las investigaciones se han centrado en cambio, en el estudio de la expresión de genes específicos basándose en resultados reportados anteriormente, que lleven a la sospecha de que podrían ser influenciados por la estimulación tetánica. Esto ha llevado a que se conozcan algunos aspectos de los mecanismos que permiten la modificación de la transcripción genética luego de la aplicación de estimulación tetánica.

La entrada de calcio, por intermediación de la proteína calmodulina, causa entre otras cosas la activación de la glicoproteína Adenil ciclasa; esta proteína produce AMP cíclico a partir de moléculas de ATP (Kennedy y Marder, 1992). Este nucleótido es utilizado como mensajero en un sin número de

⁵ La electroforesis es una técnica de biología molecular que mediante la aplicación de un campo eléctrico, separa las distintas proteínas de acuerdo a su tamaño y forma. Para una mayor resolución, puede utilizarse la electroforesis de dos dimensiones que separa las proteínas primero de acuerdo a su carga positiva/negativa y posteriormente de acuerdo a su tamaño; con este procedimiento se pueden distinguir más de 1000 proteínas distintas.

cascadas de transducción celular, desde formas unicelulares hasta los vertebrados.

Durante la inducción de la potenciación de largo plazo, el AMP cíclico (cAMP) producido activa a la proteína cinasa PKA. Huang y Kandel (1994) mostraron que la potenciación de largo

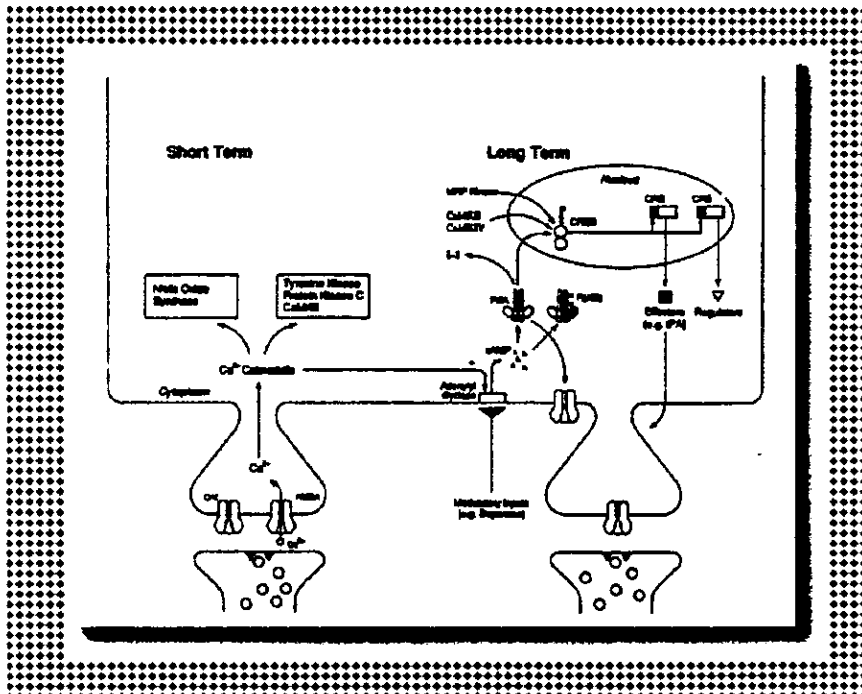


Figura 1.6. Mecanismos moleculares de transcripción genética en la potenciación de largo plazo. La liberación de glutamato por la célula presináptica pareada con la depolarización de la célula postsináptica causa la activación de los receptores AMPA y NMDA. Los receptores NMDA permiten la entrada de sodio y calcio. El calcio activa la proteína calmodulina que activa la producción de cAMP de las proteínas cinasas dependientes de calcio como PKC, CaMKs. El cAMP activa a la proteína PKA que promueve la transcripción de genes dependientes del factor de transcripción CREB que conducen al mantenimiento del LTP en periodos superiores a dos horas (Adaptado de Abel et al, 1997).

plazo decae si la actividad de esta proteína es bloqueada. Estos resultados fueron confirmados por experimentos en los que se alteró genéticamente la actividad de la proteína (Abel et al.1997).

Al ser activada la proteína PKA ocurre la disociación de su unidad regulatoria de la catalizadora permitiendo la entrada de la segunda al interior del núcleo (Hagiwara, et al.1993). Una vez en el interior, transfiere grupos fosfatos para la activación del factor de transcripción CREB⁶ (cAMP responsive element binding protein) (Hagiwara et al.,1993) que participa en la modulación de la transcripción de una gran variedad de genes que contienen sitios sensibles a ella, denominados CRE (cAMP responsive element) (Silva et al, 1998). En ratones en donde CREB había sido inhibido genéticamente se observaron deficiencias en la capacidad de las preparaciones para expresar LTP por periodos prolongados (Silva et al, 1998; figura 1.6).

Entre los genes regulados por la activación del factor de transcripción CREB se encuentran los receptores a glutamato tipo AMPA. Nayak et al. (1998), examinaron los niveles de transcripción de estos receptores y encontraron que la producción de estos aumenta después de la inducción de LTP utilizando la

⁶ Los factores de transcripción de la familia CREB incluyen al menos 10 miembros). El Factor de transcripción CREB contiene dominios para su unión con sitios sensibles (CRE) en la molécula de DNA. Diversas cinasas tales como PKA, PKC, CaMKs entre otras, regulan la actividad de este factor de transcripción mediante la fosforilación de sus sitios de activación. (Brindle and Motminy 1992; Sassone-Corsi 1995).

activación de la vía de transducción de la cinasa PKA; sin embargo, la transcripción de receptores NMDA no se ve modificada.

Algunos estudios han mostrado la importancia de los factores tróficos en la LTP. La expresión de los genes que codifican los factores de crecimiento BDNF y NGF aumenta tras la inducción de LTP (Bramham et al. 1996; Morimoto 1998). El aumento de la transcripción de genes que codifican factores de crecimiento así como moléculas de adhesión celular podrían constituir la conexión entre el incremento en la eficiencia sináptica y las modificaciones estructurales en los sitios sinápticos que se han observado tras la inducción de LTP (Edwards 1995).

OTROS SITIOS

A pesar de que tanto la LTP como la depresión de largo plazo (LTD) se han estudiado principalmente en la región del hipocampo, particularmente en la vía perforante en el giro dentado y la vía colateral de Schaffer en la zona de CA1, los fenómenos de plasticidad a largo plazo se han reportado para distintas vías en otros sitios del cerebro incluyendo el cerebelo (Salin et al, 1996), el tálamo, el núcleo accumbens (Kombian and Malenka 1994) y diversas zonas corticales (Tsumoto, 1992; Kirkwood et al. 1993) tales como la corteza auditiva (Boumano and Merzenich, 1998), visual (Kirkwood and Bear, 1994), somatosensorial (Crair and Malenka, 1995;), insular (Escobar et al, 1998) y entorrinal (Alonso et al, 1990).

Los experimentos realizados en distintas vías corticales mostraron que los fenómenos de potenciación de largo plazo son dependientes de la actividad de los receptores NMDA (Tsumoto, 1992; Bear and Kirkwood, 1993; Boumano and Merzenich, 1998) al igual que en el hipocampo. Sin embargo hay evidencia de que existen variaciones en los mecanismos de expresión de la LTP dependiendo del sitio en la corteza en el que sea inducido, las capas en donde se realicen los registros y el tipo de células implicadas (Buomano and Merzenich, 1998). Alonso et al, (1990) mostraron que dentro de la corteza entorrinal es posible inducir potenciación de largo plazo hebbiana y no hebbiana⁷, a pesar de que en este caso, ambos tipos de LTP son dependientes de los receptores NMDA.

Los datos obtenidos en otras vías sinápticas del SNC mostraron que no en todos los casos comparten los mecanismos moleculares que se encuentran implicados en la LTP en la vía colateral de Schaffer en el hipocampo. En 1990 Zalutsky y Nicoll reportaron el fenómeno de la potenciación de largo plazo en las fibras musgosas en la región CA3 del hipocampo. En este caso, los datos sugieren que la inducción de LTP resultó no asociativa, es decir, no se requiere de la depolarización de la célula postsináptica al tiempo que se aplica estimulación de alta frecuencia presinápticamente. Sus resultados mostraron que la LTP, a

⁷ El postulado de Hebb se describe en el siguiente capítulo en la nota al pie número 3.

diferencia de las otras vías hipocámpales, se puede inducir aun en la presencia de AP5, es decir que al menos esta vía no requiere de la activación de los canales de NMDA para incrementar su eficiencia sináptica de forma persistente.

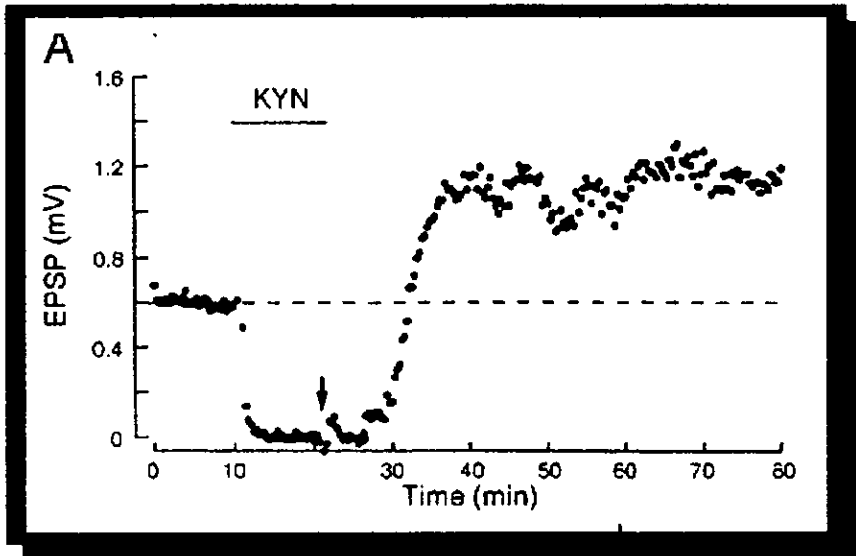


Figura 1.7. Potenciación de largo plazo inducida de forma presináptica en las vías paralelas del cerebelo y no requiere de actividad postsináptica. Registro en el que se aplica estimulación tetánica (flecha) en presencia de kynurenato, bloqueando la transmisión sináptica (periodo señalado por la barra superior). Al retirarse el bloqueo se encuentra un incremento persistente en la respuesta. (Adaptado de Salin et al, 1996).

En registros en los que se monitoreó la facilitación ante pares de pulsos⁸ (PPF de Pair Pulse Facilitation), antes y después

⁸ La facilitación ante pares de pulsos es un tipo de plasticidad sináptica de muy corto plazo que ocurre por la acumulación momentánea de calcio en los sitios presinápticos después de la activación de la vía lo que aumenta la probabilidad de que en aquellos sitios sinápticos en los que ante el primer pulso no ocurrió, se libere neurotransmisor, produciéndose una respuesta de mayor intensidad ante a aplicación del segundo pulso.

de la aplicación de la estimulación de alta frecuencia, encontraron que la potenciación de largo plazo elimina la facilitación ante el segundo pulso (Zalutsky y Nicoll, 1990). Este resultado indica que la facilitación ante los pares de pulsos se ocluye con la potenciación a largo plazo, sugiriendo que utilizan los mismos mecanismos para su expresión. Dado que la facilitación ante pares de pulsos es un fenómeno presináptico, su oclusión a causa de la potenciación de largo plazo indica que al menos en parte el fenómeno es expresado de forma presináptica.

Los hallazgos en las fibras musgosas de CA3 resultaron no ser un hecho aislado en el SNC, en 1996, Salin et al. llevaron a cabo un estudio más completo con experimentos similares en las vías paralelas del cerebelo; estas vías están formadas por las conexiones de las células granulares con los árboles dendríticos de las células de purkinje. Encontraron que en esta vía la potenciación a largo plazo era también independiente de la activación de los receptores NMDA. Observaron que estos cambios eran, expresados de forma presináptica como lo indicaron los cambios en la facilitación de la respuesta ante la aplicación de pares de pulsos; después de la administración de la estimulación tetánica el incremento de la respuesta ante el segundo pulso disminuyó. En este mismo trabajo, se demostró que en esta vía la inducción de la potenciación de largo plazo no depende de la activación de las células postsinápticas al utilizar una combinación de bloqueadores de los receptores glutamatérgicos durante la administración de los

trenes de estimulación, en los que encontró los mismos niveles de facilitación al eliminar el bloqueo (figura 1.7).

Este trabajo proporcionó evidencia de que los resultados obtenidos en las fibras musgosas no constituían un hecho aislado, y que la potenciación a largo plazo no está mediada por los mismos mecanismos dependientes de la activación de los receptores NMDA en las distintas vías que son capaces de expresarla y que no en todos los casos la potenciación es un fenómeno hebbiano (Malenka, 1994).

LTD

A casi veinte años del descubrimiento del fenómeno de LTP, Dudek y Bear (1992) observaron en la vía colateral de Schaffer en el hipocampo otro tipo de cambio plástico de largo plazo. Mediante la aplicación de trenes de impulsos a baja frecuencia (3Hz), obtuvieron una depresión persistente de la respuesta sináptica. A este fenómeno se le conoce como depresión de largo plazo (LTD de las siglas en inglés). Al igual que la LTP, la LTD se ha encontrado en diversas vías del sistema nervioso (Linden, 1994) (figura 1.8). Para investigar las similitudes entre el fenómeno de LTP y la depresión de largo plazo, se llevaron a cabo registros en presencia de AP5 que mostraron que el fenómeno de LTD, al igual que la potenciación de largo plazo, es dependiente de la activación de los receptores NMDA (Dudek y Bear, 1992; figura

1.10). Se estableció que el fenómeno también utilizaba la señal de calcio como inductor de la depresión en la vía.

Lisman (1994) propuso un modelo para explicar como la entrada de calcio puede conducir a la depresión o potenciación en una misma vía. Este modelo plantea que aumentos moderados en las concentraciones de calcio ante la estimulación de baja

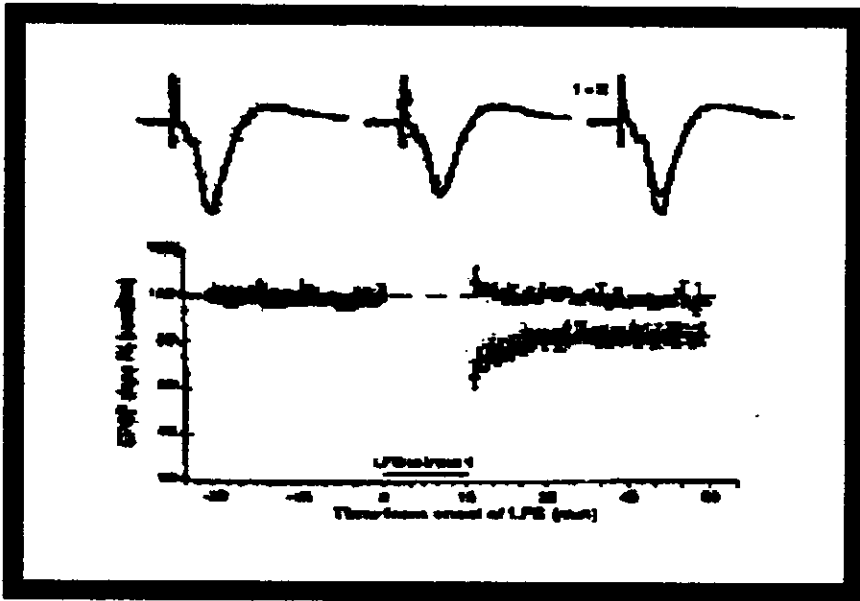


Figura 1.8. Depresión de largo plazo. Datos normalizados y trazas representativas de experimentos realizados en la vía colateral de Schaffer en el hipocampo. Se muestran los registros simultáneos en dos vías independientes; en una de ellas se aplicó estimulación de baja frecuencia (3Hz) (barra horizontal), tras lo cual se observa una disminución en la respuesta. La otra vía permanece como control sin cambio. (Adaptado de Dudek y Bear, 1992)

frecuencia conducen a la depresión de largo plazo, mientras que incrementos grandes en los niveles del calcio durante la administración de trenes de pulsos de alta frecuencia, producen una

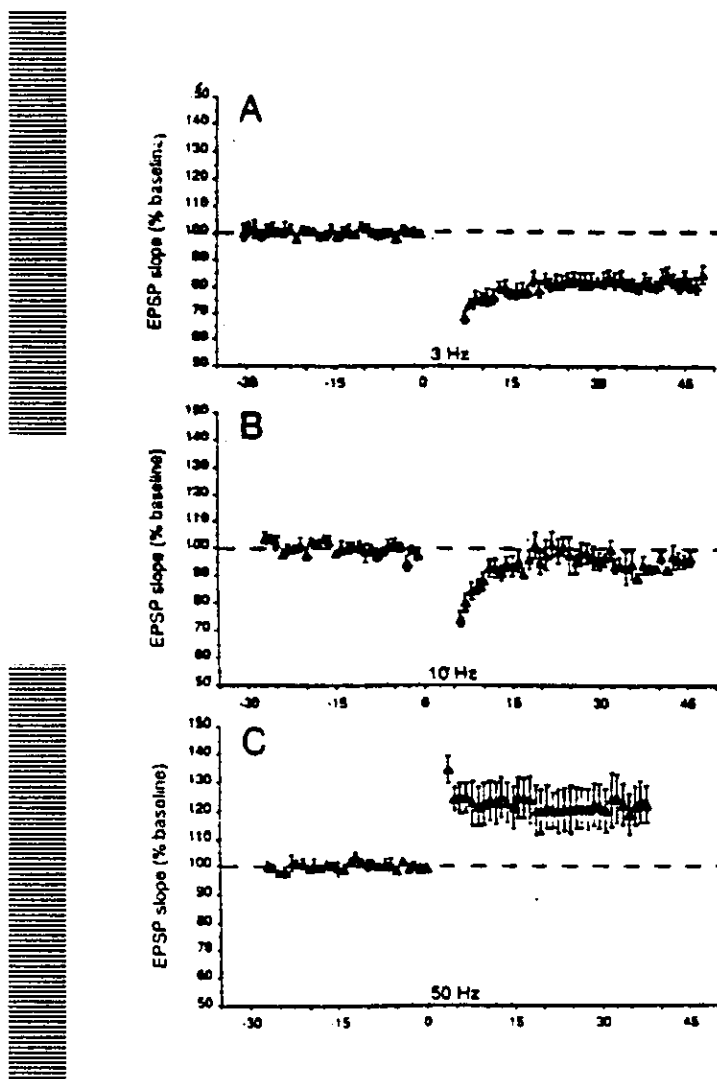


Figura 1.9 .Cambios a largo plazo dependientes de la frecuencia de activación. Datos normalizados de registros realizados en la vía colateral de Schaffer en el hipocampo. Efectos ante la aplicación repetida de estimulación de distintas frecuencias (1Hz, 10Hz y 50Hz). (Adaptado de Dudek y Bear, 1992)

potenciación de largo plazo, activando vías de transducción distintos en el interior de las neuronas.

BIDIRECCIONALIDAD

Dudek y Bear (1993) también llevaron a cabo experimentos en los que utilizaron distintas frecuencias de estimulación en una misma preparación; encontraron que tanto el fenómeno de LTP como el de LTD, son reversibles. En una preparación en la que se ha inducido LTD a través de la administración de estimulación de baja frecuencia (1Hz), la aplicación de una frecuencia alta (100Hz) causa una potenciación de la respuesta, misma que puede deprimirse de nuevo mediante la aplicación de una baja frecuencia (figura 1.9 y 1.10).

Además, la capacidad de una vía para expresar cambios de largo plazo en la eficiencia sináptica y el tipo de estas modificaciones (LTP o LTD), es dependiente de las modificaciones que se hayan provocado en el pasado. En preparaciones hipocampales en las que aplicaron breves periodos de estimulación con una frecuencia moderada (30Hz), causando una potenciación que decaía a los pocos minutos, la aplicación posterior de una estimulación de alta frecuencia fallaba en producir LTP (Malenka and Nicoll, 1993).

A estas variaciones en los umbrales de la frecuencia de actividad necesaria para provocar LTP o LTD a causa de activación previa se conoce como metaplasticidad (Malenka and Nicoll,

1993). Se ha planteado que la metaplasticidad podría proveer al sistema nervioso con un mecanismo que permita mantener dentro de un rango funcional a las conexiones sinápticas evitando la saturación de LTP o LTD (Abraham and Tate, 1997).

La bidireccionalidad de los cambios plásticos en la eficiencia sináptica, la llamada metaplasticidad, unidas a las características de especificidad, cooperatividad y especialmente asociatividad, antes descritas; además de experimentos realizados en invertebrados, en los que se ha encontrado que algunos tipos de aprendizaje implican modificaciones en la eficiencia sináptica de algunas vías (Bailey and Kandel 1995); han llevado al planteamiento de los fenómenos de plasticidad de largo plazo.

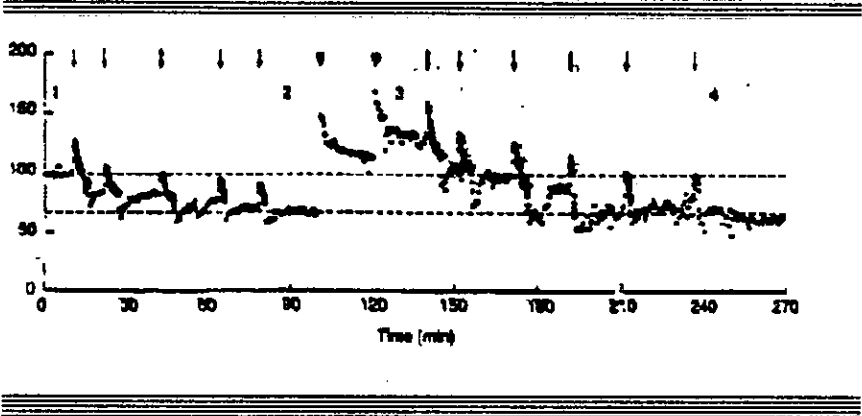


Figura 1.10. Reversibilidad de los cambios a largo plazo. Registro realizado en la vía colateral de Schaffer en el hipocampo. Tras la aplicación repetida de estimulación de baja frecuencia (1Hz) produce la saturación de LTD, la administración de estimulación tetánica (100Hz) conduce a la reversión de la depresión y una potenciación de la vía. La nueva aplicación de estimulación de baja frecuencia revierte los efectos de incremento en la respuesta y causa LTD. (Adaptado de Malenka y Nicoll, 1993)

particularmente la LTP, como modelos celulares de memoria en mamíferos (Bliss and Collindridge 1993).

LTP y Aprendizaje

Por qué LTP es un modelo de aprendizaje y memoria. Cuáles son los problemas para demostrar esa conexión.

El principal motor que ha promovido el estudio de la LTP es su postulación como modelo celular de memoria. Probablemente no hay publicación alguna sobre el tema en el que la palabra memoria no se mencione al menos una vez, y por supuesto... no podía omitirse en este trabajo. Sin embargo a pesar de su estrecha relación en las palabras, la evidencia experimental a favor de esta relación no es abundante y en su mayor parte es motivo de controversia (Malenka y Nicoll 1997; Cain 1997; Jeffery 1997; Hölscher 1997; Shors and Matzel 1997).

El almacenamiento de información es uno de los procesos más importantes que ocurren en el sistema nervioso permitiendo al organismo modificar su comportamiento de acuerdo a su experiencia pasada (Chance 1981). La búsqueda del sitio y los mecanismos a través de los cuáles los recuerdos son guardados lleva varias décadas y, hasta hace muy poco tiempo, la comprensión acerca del proceso mnémico y sus correlatos fisiológicos era muy pobre (Gerard, 1949).

Diversas estructuras han sido asociadas a funciones mnémicas a través del estudio de las secuelas de lesiones en

pacientes humanos (por ejemplo Bohbot, et al, 1998) y trabajo experimental realizado en animales (Prado-Alcalá et al, 1978; Bermudez-Rattoni et al. 1991; Morris, 1982 por mencionar algunos). Uno de los primeros trabajos en los que una región del sistema nervioso fue asociada al almacenamiento de información fue realizado por Scoville y Milner (1957). Ellos describieron los trastornos en la memoria del paciente HM, quien tras haber sido sometido a una cirugía en la que se removieron extensas zonas del lóbulo temporal bilateralmente (incluyendo el hipocampo el giro parahipocampal y la amígdala), el paciente HM presentó serios transtornos en su capacidad para almacenar nuevas experiencias¹.

Experimentos realizados en primates confirmaron la relevancia de las estructuras del lóbulo temporal en los procesos mnémicos (Mahut et al.1981; Mishkin 1978) y particularmente el hipocampo, una estructura ampliamente relacionada con fenómenos de memoria (Squire, et al, 1995; Squire and Knowlton, 1995), tanto en humanos (Scoville and Milner, 1957; Zola-Morgan et al, 1986; Bohbot, et al, 1998) como en modelos animales (Clower et al, 1991; Morris, 1982). En animales, la estructura hipocampal se ha asociado con la realización de tareas de tipo espacial. La lesión u obstrucción del funcionamiento de esta estructura en ratas, se traduce en el fracaso de la solución de tareas espaciales (Morris, 1982).

¹ A este padecimiento se le conoce como anmesia anterógrada.

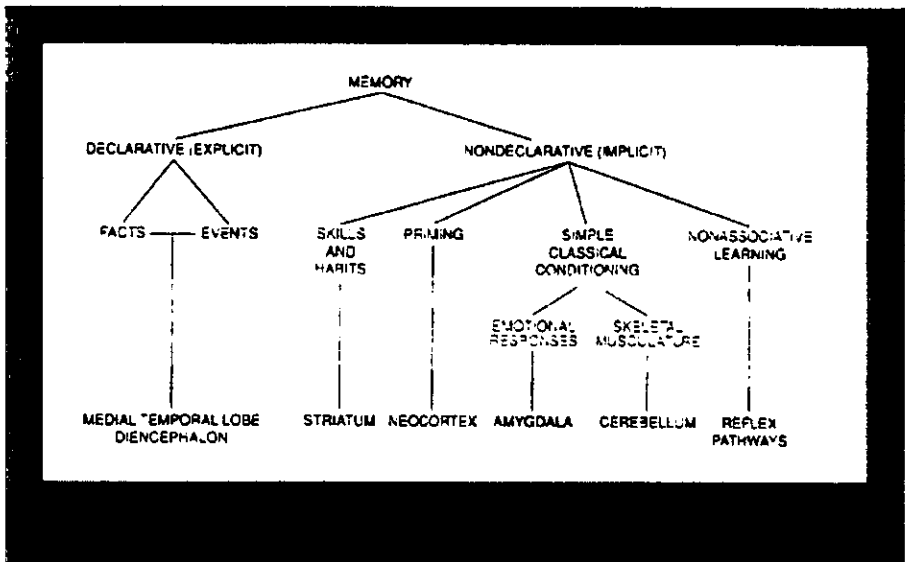


Figura 2.1. Tipos de memoria y estructuras del sistema nervioso asociadas (Squire and Knowlton, 1995).

A partir de estos y otros estudios, actualmente se reconoce que existen varios tipos de memoria que difieren en temporalidad y tipo de información (Tulving, 1985; Squire and Knowlton, 1995) así como en las estructuras nerviosas necesarias para su establecimiento (Zola-Morgan and Squire, 1993; Squire and Knowlton, 1995; Shimamura, 1995 Figura 2.1). Sin embargo, estos resultados aunque permiten localizar los circuitos a través de los cuales fluye la información durante la adquisición, la retención, y el recuerdo, no dicen mucho acerca de los mecanismos utilizados por el sistema nervioso que hacen posible estos procesos.

Las sinápsis son unidades ideales para el almacenamiento de información en el sistema nervioso por su gran número, su alta

especificidad y por su capacidad plástica. Estudios realizados en invertebrados, particularmente en *Aplysia californica*, han demostrado que tipos sencillos de aprendizaje tales como habituación, sensibilización y condicionamiento clásico², conllevan cambios en la eficiencia de las conexiones sinápticas en los circuitos neurales implicados. Estos cambios pueden mantenerse durante horas e incluso días (para una revisión ver Bailey and Kandel, 1995).

La LTP se ha definido como el modelo celular más aceptado para el almacenamiento de información en mamíferos (Bliss and Collindridge, 1993; Martinez and Derrick, 1996; Malenka, 1994; Kandel et al, 1995; Hall, 1992). La potenciación de largo plazo se propuso como candidato para ser el mecanismo nervioso de memoria, dada su persistencia en el tiempo y sus características hebbianas³ en la región CA1 en el hipocampo, así como algunos de los requerimientos moleculares que han probado ser necesarios en el aprendizaje (Shors and Matzel 1997).

2 Recientemente se diseñó un modelo celular en este organismo para estudiar los cambios en la fuerza de las conexiones sinápticas en el condicionamiento operante.

3 En 1949, Hebb propuso que los procesos plásticos en la comunicación sináptica debían subyacer al almacenamiento de información en el sistema nervioso, para ello desarrolló un modelo asociativo de plasticidad sináptica: si se tiene una neurona 'A' que hace sinapsis en la neurona 'B' y cuyo potencial de acción generalmente falla en producir un disparo en 'A', puede incrementar su eficiencia en provocar el disparo de 'A' si participa repetidamente en la activación de 'A'. A las sinapsis con esta propiedad se les conoce ahora como sinapsis hebbianas.

Los argumentos a favor de una relación causal entre la LTP y la memoria se basan principalmente en que la disrupción de ciertos requerimientos moleculares para el establecimiento y mantenimiento de la potenciación de largo plazo, también producen deficiencias en la solución de ciertas tareas. Se ha encontrado que el uso de bloqueadores en el hipocampo de los receptores NMDA, cuya actividad es necesaria para la inducción de LTP en vías hipocampales, produce déficits en el aprendizaje de las tareas de tipo espacial (Davis et al, 1992; Morris et al, 1986); mientras que el bloqueo de estos receptores en la amígdala impide el aprendizaje en la tarea de inhibición latente (Cheng Liang et al, 1994) y administrado en la corteza insular se traduce en deficiencias de la adquisición de tareas espaciales y condicionamiento aversivo al sabor (Gutiérrez et al., 1999). El bloqueo de los receptores NMDA en la amígdala impide la adquisición del condicionamiento al miedo (Kim et al, 1992).

El bloqueo de la actividad de otras proteínas necesarias en la potenciación de largo plazo, tales como las proteínas cinasas PKA, PKC, CaMKs (Mayford et al.1996; Malenka 1994) también implicadas en el establecimiento o mantenimiento de la potenciación de largo plazo, interfieren en mayor o menor grado con la solución de tareas espaciales. Por otra parte, al igual que el mantenimiento de la LTP por periodos prolongados, la consolidación de la información es dependiente de la transcripción de proteínas (Davis and Squire, 1984; Matthies, 1989) tanto en

invertebrados (Montarolo et al, 1986; Tully, 1991) como en mamíferos (Davis and Squire, 1984 en Abel et al, 1997).

Algunos estudios sugieren que tanto el almacenamiento de información como la LTP utilizan vías de transducción similares para la regulación de expresión genética. Se ha encontrado que la actividad de la cinasa PKA es necesaria para la consolidación de información (Huang et al. 1994; Abel et al, 1997). Así mismo, se requiere de la activación de la expresión de genes dependientes del factor de transcripción CREB, para la consolidación de la memoria en especies como la *Aplysia californica* (Dash et al, 1990), *Drosophila Melanoganster* (Yin et al, 1994) y en mamíferos (Kogan et al., 1996; figura 2.2).

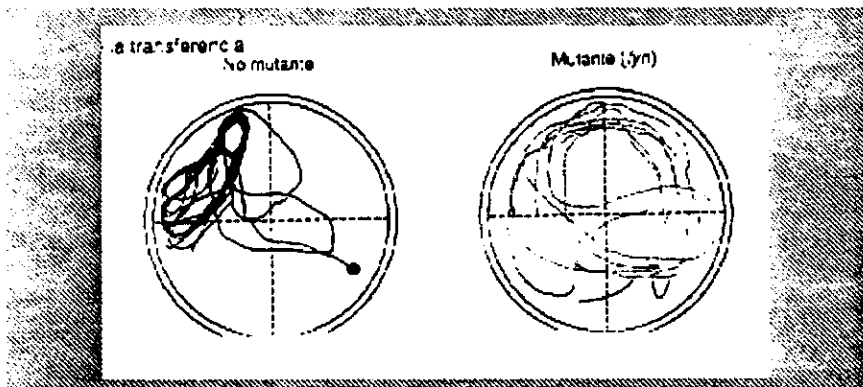


Figura 2.2. Los ratones mutantes del gen *fyn* (miembro de la familia *src* es una tirosina kinasa) muestran déficits en la expresión de LTP en el giro dentado en el hipocampo y en el aprendizaje de tareas espaciales. Se muestra el recorrido de un ratón no-mutante y un mutante en una prueba de memoria tras ser entrenados en el laberinto de agua a encontrar una plataforma sumergida. Durante la prueba se arroja a los ratones al tanque sin plataforma y se les permite nadar libremente durante 60 segundos. El ratón no-mutante realiza un recorrido en el cuadrante en el que se encontraba la plataforma durante el entrenamiento; el ratón mutante, recorre la totalidad del tanque (Adaptado de Kandel et al, 1995).

Los hallazgos mencionados han sido utilizados como prueba de que la LTP es el engrama o huella de la memoria. Sin embargo estos resultados presentan problemas para su interpretación; no es posible descartar que la administración de drogas, para interrumpir la actividad de alguna proteína relacionada con LTP, antes de la adquisición de una tarea, no tenga efectos sobre los sistemas sensoriales, motores, etc., y que los déficits en el desempeño se deban a trastornos de atención o de tipo motor y no de aprendizaje propiamente. Por ejemplo se ha observado que ratas entrenadas bajo el efecto de antagonistas de los receptores NMDA exhiben alteraciones sensoriomotoras (Cain 1998).

Por otra parte no en todos los casos la ausencia, de algunas proteínas, impide los procesos de plasticidad sináptica de largo plazo provoca alteraciones en el desempeño en tareas de aprendizaje (Malenka 1994; Hölscher 1997). En algunos estudios con mutantes de genes de proteínas necesarias para el establecimiento de LTP, se ha encontrado que a pesar de que no es posible inducir LTP in vivo o in vitro, los animales muestran un aprendizaje normal de tareas espaciales (Montkowsky and Holsboer 1997 para BDNF y Nosten-Bertrand et al. 1996 para Thy-1, una glicoproteína de adhesión celular)

El posible papel de la LTD en los procesos de aprendizaje y memoria fue recibido con gran entusiasmo, ya que proveía de un mecanismo para hacer reversibles los aumentos en la respuesta sináptica que ocurren durante la LTP (Bear, 1996 Heynen et al.

1996). Sin embargo, esta posibilidad es aún más cuestionada, ya que la inducción en el hipocampo de este tipo de plasticidad en cerebros adultos o mediante procedimientos *in vivo*, no han sido fácilmente reproducibles (Hölscher 1997).

Dejando de lado los problemas mencionados, en el mejor de los escenarios, los resultados favorables sólo muestran que la memoria y la LTP coinciden en ciertos requerimientos moleculares, mas no son suficientes para concluir que la LTP se induce durante el aprendizaje y menos aún que sea el mecanismo mediante el cual la información sea almacenada por el sistema nervioso (Malenka and Nicoll 1997).

La búsqueda de datos que permitan demostrar que la LTP es un mecanismo para guardar información o al menos que el aprendizaje de una tarea provoca el establecimiento de la potenciación de largo plazo, han sido en la mayoría de los casos poco afortunados. Numerosos estudios han abordado el papel de la potenciación de largo plazo en el almacenamiento de información, la mayor parte de ellos se han realizado en el hipocampo (Silva et al.1998).

Uno de los problemas que enfrentan estos estudios (además de la temida posibilidad de que en efecto tal relación no existiese!) es el hecho de que el hipocampo tiene acceso a información muy variada proveniente de diversos sitios del sistema nervioso con diversos grados de procesamiento, y aún no se ha definido con precisión el papel de esta estructura en el funcionamiento del

sistema nervioso (Malenka y Nicoll, 1997; Martinez y Derrick, 1996). Por otro lado, resolver una tarea espacial requiere de los sujetos un estado de atención o alertamiento y la integración de numerosos tipos de estímulos visuales y posiblemente somatosensoriales y/u olfativos durante la creación de un mapa cognitivo del sitio, con base en las claves que el medio le proporciona. Esta gran cantidad de factores disociables que intervienen resultan en una gran dificultad para establecer con exactitud las vías por las que fluye la información durante el aprendizaje de la tarea (Cain 1998).

La evidencia hasta el momento más sólida a favor de una relación entre el aprendizaje y la LTP proviene de dos estudios realizados por dos grupos independientes no en el hipocampo sino en la amígdala (Rogan et al, 1997 y McKerman et al, 1997). Trabajos anteriores habían mostrado el papel de la amígdala en el condicionamiento al miedo y la LTP se había propuesto como candidato a ser el mecanismo celular de aprendizaje (Maren, 1996). Los resultados de estos trabajos sugieren que el condicionamiento al miedo causa incrementos de largo plazo en la eficiencia sináptica en la vía que transmite información auditiva del núcleo geniculado medial del tálamo a la amígdala lateral. Se encontraron modificaciones en la facilitación ante pares de pulsos y la oclusión de LTP en secciones obtenidas de animales entrenados ambos asociados a la ocurrencia de LTP.

El éxito de estos estudios se debe en parte a la mayor sencillez de la tarea respecto a las tareas espaciales, y a la mejor caracterización del circuito sináptico del flujo de información durante la adquisición de la tarea. Es posible suponer que estos dos estudios realizados en la amígdala promoverán la realización de estudios similares en otras regiones del sistema nervioso en los que sea posible inducir LTP y que se hayan asociado al aprendizaje de alguna tarea. Otros casos que cumplen con estos requerimientos son el condicionamiento del parpadeo en el que se encuentra implicado el cerebelo y el aprendizaje motor en el que participan la corteza sensorial y el tálamo (Asasuma y Pavlides 1997) por ser tipos de aprendizaje sencillos, para los que se conocen los circuitos nerviosos implicados.

Si los resultados sobre la relación entre la LTP y los procesos de memoria no son satisfactorios, el papel que podrían jugar los cambios de largo plazo en la eficiencia sináptica -de ocurrir naturalmente en el SNC- en el futuro funcionamiento de los circuitos nerviosos se conoce menos aún. La acumulación de datos en diversas vías nerviosas sobre fenómenos plásticos persistentes en el tiempo y los mecanismos moleculares que les subyacen, han mostrado que el fenómeno de potenciación de largo plazo (y LTD), pueden inducirse en una gran variedad de estructuras, algunas no claramente relacionadas con procesos mnémicos. Además, los cambios moleculares al interior de las células durante la inducción y el mantenimiento de los fenómenos plásticos han mostrado ser

distintos para distintas estructuras. La activación de receptores de tipo NMDA no es necesaria para la inducción de LTP en algunas vías. Las características hebbianas de la LTP que muestra la región de CA1, no ocurren en otras vías tales como las fibras musgosas de CA3, o en las vías paralelas de la corteza cerebelar, en ambas vías la evidencia se ha mostrado claramente a favor de mecanismos primordialmente presinápticos que no requieren de eventos postsinápticos.

La existencia de formas de LTP no asociativas o no hebbianas, la variedad de mecanismos moleculares de expresión, así como su ocurrencia en una gran variedad de estructuras, debilitan la posibilidad de la aparición de la LTP durante la evolución del sistema nervioso como mecanismo de retención de información y sugieren un papel más general en el funcionamiento de los circuitos neurales. La modificación del peso de las conexiones sinápticas entre ciertas estructuras puede añadir un mayor control del efecto que la activación de ciertos grupos de neuronas tendrá sobre sus blancos sinápticos, y de este modo funcionar como un proceso de regulación de la relación entre las distintas estructuras de los distintos sistemas del SNC.

Recientemente se ha planteado la posibilidad de que mecanismos plásticos de largo plazo formen parte de un sistema de regulación de los estados de alerta, modificando la saliencia de los estímulos (Shors and Matzel 1997). Adamec (1998) propuso al LTP en las vías de la amígdala al hipotálamo ventromedial como

mecanismo modulador de la respuesta de defensa y otros cambios de comportamiento.

Recientemente se planteó la posibilidad de que la LTP sea utilizada, en circuitos que disparan de manera rítmica, como mecanismo para aumentar la resonancia y asegurar el mantenimiento de la actividad por más tiempo en la red neuronal. Ya que la actividad rítmica se ha asociado con estados conductuales, la LTP podría jugar un papel en el mantenimiento de ciertos estados de atención durante periodos de tiempo (Alonso et al. 1990).

Una de las estructuras que presenta una marcada actividad rítmica es el tálamo, esta estructura se ha asociado con la generación de sincronización de actividad característica de las ondas theta. Este tipo de actividad se encuentra fuertemente asociado a estados de conducta, particularmente el ciclo sueño vigilia. Las ondas theta se presentan durante las fases profundas del sueño y se hallan ausentes durante la vigilia y el sueño paradójico.

Sistema tálamo-córtico-talámico

El tálamo

La neocorteza

Conexiones tálamo-corticales

Vías córtico-talámicas

Tálamo ventrobasal y el sistema somatosensorial

EL TÁLAMO

"...the sole and unique open gates by which all stimuli from without... pass; and the only means of communication by which the regions of physical activity come into contact with the external world..." (Willis, 1881 en Jones, 1985).

El tálamo, y la neocorteza (figura 3.1) son dos estructuras complejas a las que se atribuyen funciones altamente especializadas del sistema nervioso para la generación de comportamiento. El tálamo provee de información sensorial y de otras zonas del SNC a la neocorteza y estas dos estructuras se encuentran ampliamente interconectadas.

El tálamo es una estructura del sistema nervioso central que forma parte del diencefalo. Constituye la principal entrada de información sensorial al cerebro¹ (excepto para el olfato que tiene

¹ Algunas proyecciones provenientes del tallo cerebral alcanzan la corteza sin intermediación talámica (Castro-Alamancos y Connors 1997).

acceso directo a otras estructuras) (Jones, 1985; Steriade et al, 1990; Castro-Alamancos y Connors, 1997; Guillery, 1995). A fines del siglo pasado fue asociado a funciones sensoriales, mediante reportes clínicos de pacientes que sufrían lesiones en la región y experimentos realizados con animales (Jones, 1985). Luys (1865 en Jones 1985) propuso que los diferentes núcleos que conforman el tálamo funcionan independientemente recibiendo y condensando

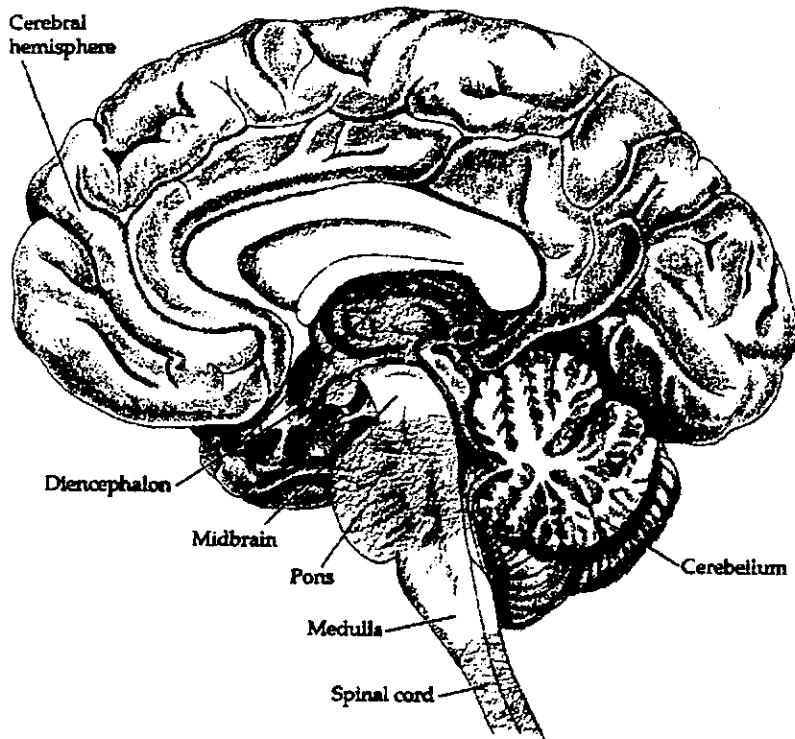


Figura 3.1. Sistema nervioso central, mayores divisiones. La corteza cerebral se encuentra recubriendo a los hemisferios cerebrales. El tálamo es una estructura del diencefalo.(Adaptado de Hall, 1992).

información de distintas modalidades sensoriales y relevándola hacia los hemisferios para su procesamiento.

Mediante el uso de técnicas de tinción y recientemente la microscopía electrónica, ha sido posible la descripción de la morfología y organización sináptica de los distintos núcleos talámicos (Jones 1985). El tálamo está conformado principalmente por tres tipos de células (Kölliger, 1896). 1. Las células de relevo, ubicadas en el área dorsal del tálamo se caracterizan por ser grandes con amplios árboles dendríticos y por axones sin ramificaciones colaterales que proyectan hacia la corteza. 2. Las interneuronas son pequeñas neuronas con dendritas irregulares y un axón con al menos una conexión colateral. 3. Un tercer tipo de células ovaladas forma el núcleo reticular; tienen escasas ramificaciones dendríticas y axones con proyecciones colaterales (Kölliger, 1896; Ramon y Cajal, 1904, 1911 en Jones 1985 y Steriade et al, 1990).

El tálamo se encuentra ampliamente interconectado con la periferia así como con las diversas estructuras del sistema nervioso central. La descripción de estas conexiones, se inició a través de lesiones de regiones de los órganos sensoriales o zonas corticales específicas que causaban la degeneración limitada de células en algún núcleo talámico. Mediante estos métodos se describió la organización topográfica del núcleo geniculado lateral (Mikowski, 1913 en Jones 1985) tras la lesión de reducidas zonas de la corteza visual. Con el desarrollo de trazadores anterógrados y retrógrados

que aprovechan el transporte de moléculas en el axón, las conexiones talámicas aferentes y eferentes, se han definido detalladamente (Macchi, 1883).

La información sensorial llega al tálamo a través de aferentes provenientes de los aferentes sensoriales, cerebelo, tallo cerebral y núcleos basales del procéncéfalo (Castro-Alamancos y Connors, 1997; Guillery, 1995). La información visual del tracto retino-fugal la recibe el núcleo geniculado lateral (Guillery, 1969), las aferentes del gusto llegan al núcleo ventrobasal medial (VMb) (Jones 1985), el núcleo geniculado medial recibe proyecciones del colículo inferior con información auditiva (Jones and Rockel, 1971), el cerebelo envía axones al núcleo ventral lateral con información sensorial (Harding, 1973) y el núcleo anterior tiene proyecciones provenientes de los cuerpos mamilares (Somogyi et al, 1978). Los núcleos talámicos, a su vez, proyectan hacia las áreas corticales de la modalidad sensorial correspondiente. De este modo el núcleo geniculado lateral envía proyecciones hacia la corteza visual, etc.

LA NEOCORTEZA

La neocorteza es una estructura reciente evolutivamente; recubre los hemisferios (figura 3.1) en la que se distinguen seis capas horizontales (Figura 3.2). Se le asocia con las funciones mentales más sofisticadas, como la memoria, la planeación o la solución de problemas. El estudio de esta estructura no es reciente,

a principios del siglo pasado, Franz Gall introdujo la idea de que distintas zonas corticales cubren distintas funciones (Mountcastle, 1995). Mediante la evaluación de pacientes que padecían alguna lesión cortical, y a través de la estimulación eléctrica de zonas corticales, se identificaron áreas importantes para algunas funciones como las áreas de Broca y Wernicke² para el lenguaje (Mountcastle, 1995; Kandel et al, 1992).

Con el desarrollo de la encefalografía a principios de siglo por Berger (1931 en Mountcastle, 1995), que permitió registrar la actividad eléctrica del cerebro in vivo, fue posible trazar mapas corticales. A través del registro de campo y posteriormente intracelular, se registraba la actividad de las células corticales ante la estimulación sensorial. De esta manera se encontró que en la corteza se encuentran representadas topográficamente las distintas modalidades sensoriales (cualidad más ampliamente estudiada para las cortezas visual y somatosensorial), se encontró además que más de un mapa puede estar representado en una misma región y que la distribución y el tamaño de estos mapas son plásticos, pueden variar en respuesta a modificaciones en las proyecciones que reciben.

La corteza se puede dividir, de acuerdo a su función o nivel de procesamiento de información, en áreas somatosensoriales primarias en donde se recibe información sensorial del tálamo; áreas motoras primarias que proyectan a la periferia para el control

² Que llevan el nombre de sus descubridores.

de movimiento y, áreas de asociación en donde se procesa e integra la información sensorial (en las zonas posteriores) y se lleva a cabo la planeación de movimiento (en los lóbulos frontales) (Carlson, 1995).

Sin embargo, la visión actual acerca de la corteza implica ya no la distribución rígida de funciones específicas a regiones corticales delimitadas, sino la existencia de sistemas distribuidos, formados por redes de procesamiento ampliamente interconectadas entre sí para el procesamiento en paralelo, lo que provoca que la lesión de una región causa un déficit y no la abolición de la función que se llevaba a cabo en la zona y permite que sea un sistema que se retroalimenta y capaz de producir actividad interna

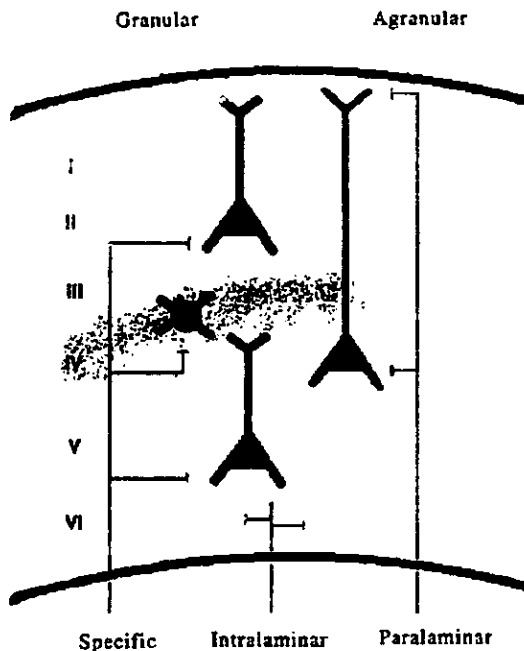


Figura 3.2. Proyecciones tálamo-corticales. En el esquema se muestran las terminaciones sinápticas de los núcleos talámicos en las distintas capas de la corteza. Los núcleos específicos proyectan a las capas III y IV principalmente; los núcleos paralaminares terminan en la capa VI probablemente y, los núcleos proyectan a la corteza agranular en la capa I y la V. (Adaptado de Castro-Alamancos y Connors, 1997).

(Mountcastle, 1995). Son estas características las que hacen posible el complejo procesamiento de información que se realiza en la estructura cortical.

SISTEMA TALÁMICO-CORTICAL

Las proyecciones a la corteza provenientes del tálamo son muy numerosas y variadas abarcando diversas regiones, no sólo a las zonas sensoriales primarias sino también a las áreas asociativas. Estas conexiones difieren además en las capas corticales que son innervadas. Basándose en esta variable, Herkenham (1986), divide a los grupos talámicos, que envían y reciben proyecciones corticales, en dos grupos³: los núcleos específicos, que reciben aferentes sensoriales, envían proyecciones que terminan en las capas IV y III de la corteza con una organización topográfica; y, los núcleos no específicos, dividiéndose en intralaminares y paralaminares; los primeros innervando el estriado y la capa V de la corteza (principalmente a la corteza frontal); mientras que los segundos proyectan principalmente a la capa I de la corteza, en áreas también innervadas por algún núcleo específico (Figura 3.2).

³ Existen otras clasificaciones de acuerdo con otras variables de tipo anatómico o funcional (Castro-Alamancos y Connors, 1997). En la siguiente sección se presenta otra clasificación propuesta por Guillery (1995).

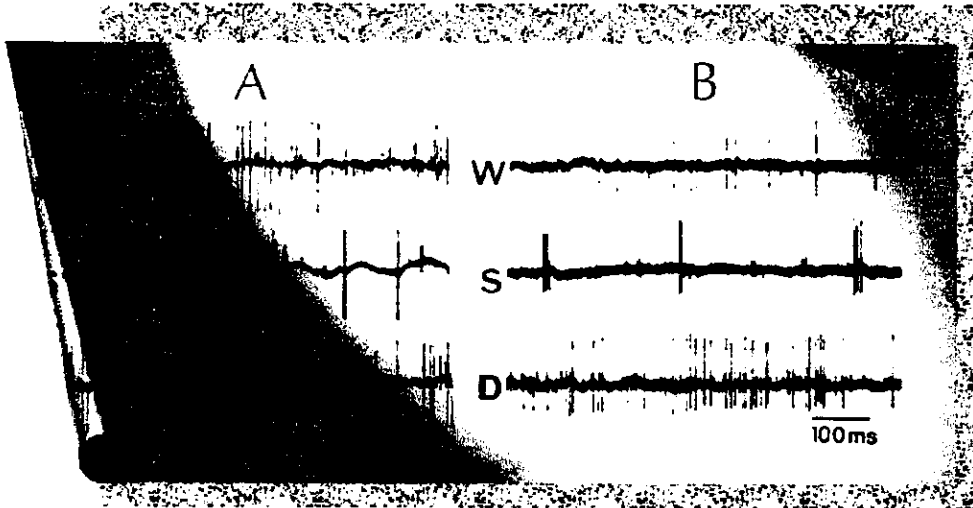
Ritmicidad

Figura 3.3. Los estados conductuales están asociados a distintos tipos de actividad neuronal. Se muestra el registro unicelular en dos células tálamo-corticales (A y B) durante distintos estados conductuales en el gato. El registro durante el sueño (S) se caracteriza por actividad de ondas lentas; durante la vigilia (W) y la fase de sueño REM se presenta actividad rápida y desincronizada (Adaptado de Steriade et al 1990).

Las vías tálamo-corticales se han asociado a la generación de la actividad rítmica que se observa en la corteza durante los distintos estados conductuales (figura 3.3). Las observaciones electroencefalográficas realizadas durante el segundo cuarto de siglo, mostraron que distintos patrones de actividad ocurren ante distintos estados conductuales, destacando las investigaciones relacionadas con el ciclo de sueño-vigilia; a partir de las cuales se estableció que durante el sueño, se observa una sincronización de la actividad caracterizado por el registro de ondas lentas que

desaparece durante estados de vigilia y alerta (Mountcastle 1995; Steriade et al, 1990).

En la corteza se pueden observar oscilaciones que van desde frecuencias inferiores a 1Hz (como las ondas lentas de origen cortical) hasta frecuencias de entre 30 y 80Hz, que caracterizan a las ondas gamma (Castro-Alamancos y Connors 1997). Estudios posteriores han mostrado que la actividad rítmica que expresa la corteza esta muy relacionada con las vías sinápticas que llegan desde el tálamo en su origen o en su regulación (Steriade et al.1990; figura 3.4).

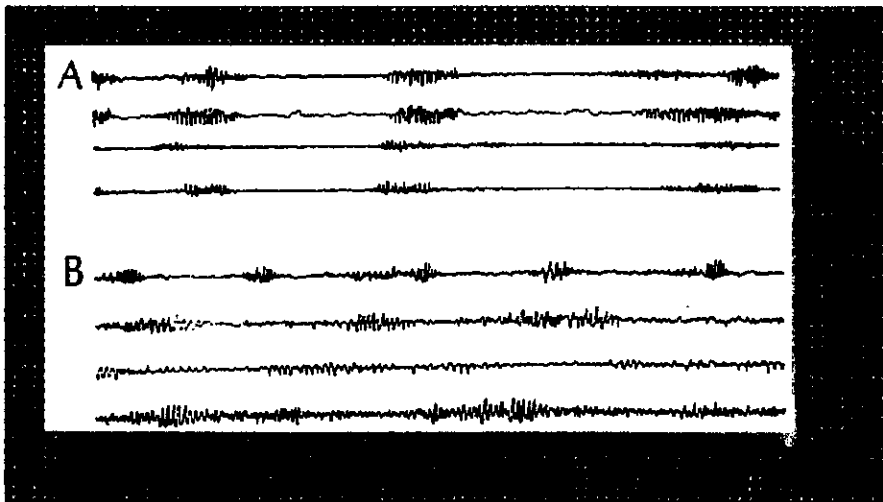


Figura 3.4. La actividad rítmica que se registra en la corteza se encuentra fuertemente relacionada a la actividad talámica. La actividad de spindles se genera en el tálamo. Registros de campo de actividad de spindles en distintas zonas A. Registro de campo en el tálamo (traza superior), y en la corteza (tercera traza). B. Registros talámicos en un gato decorticado muestra que la actividad de spindles no depende de la actividad cortical. (Adaptado de Steriade et al 1990).

Plasticidad

Las vías tálamo-corticales son capaces de expresar diversos fenómenos plásticos; estas modificaciones podrían ser utilizadas por el sistema durante las etapas de desarrollo de los sistemas sensoriales así como en la regulación de la entrada de información durante distintos estados de atención. Recientemente Castro-Alamancos y Connors (1996) encontraron que el augmenting response en las vías tálamo-corticales se modifica con los estados de conducta que impliquen un estado de alerta en el sujeto y, da evidencia de que al menos este tipo de plasticidad de muy corto plazo se ve modificado por estados conductuales.

Además, es posible inducir incrementos en la eficiencia sináptica de largo plazo como resultado de la activación de alta frecuencia (Iriki et al. 1989, 1991), así como LTD (Feldman et al. 1998). Crair y Malenka (1995) encontraron que es posible inducir LTP en la corteza de representación de las vibrisas en ratones jóvenes durante el periodo en el que estas conexiones son modificables por la estimulación exterior, la potenciación de largo plazo podría tener alguna participación en la maduración de las conexiones tálamo-corticales.

PROYECCIONES CORTICO-TALÁMICAS.

Además de las vías que proyectan del tálamo hacia la corteza, existen proyecciones masivas provenientes de distintas

zonas corticales hacia los núcleos talámicos. A partir de datos obtenidos con microscopía electrónica y el uso de trazadores antero y retrógrados, se identificaron dos grupos de núcleos talámicos de acuerdo con las aferentes que reciben: núcleos de relevo de primer orden, que reciben aferentes primarias con información sensorial; y, núcleos de segundo orden cuyas aferentes principales provienen de la corteza y no tienen acceso a información directa de las estructuras sensoriales (Guillery, 1995; figura 3.5).

Ambos tipos de núcleos difieren en el tipo de conexiones provenientes de la corteza tanto en el origen laminar como en las características morfológicas de las sinapsis que establecen. En los núcleos de primer orden que, incluyen los núcleos geniculado lateral y medial, ventrobasal y el tálamo anterior, las proyecciones que proveen de información sensorial forman sinapsis complejas cerca del cuerpo celular de las células talámicas; las conexiones corticales provenientes de la capa VI (Conley and Raczkowski, 1990), en cambio, forman sinápsis más simples con sitios de comunicación más reducidos y alejados del soma. (Jones and Powell 1969, Vidnyanszky y Hamori 1994). Las fibras corticales forman además conexiones colaterales en células reticulares mismas que forman sinapsis con las células de relevo talámicas (Jones, 1975, Conley and Diamond, 1990).

Los núcleos de segundo orden, como los núcleos mediodorsal, el posterior, el lateral posterior o pulvinar; también se denominan asociativos por recibir información de la corteza con

distintos niveles de procesamiento. Estos núcleos no reciben información de aferentes primarias; en cambio, reciben proyecciones corticales de dos tipos: un primer tipo de conexiones finas y en zonas del árbol dendrítico alejadas del soma, formando colaterales hacia la zona reticular, similares a las que reciben los

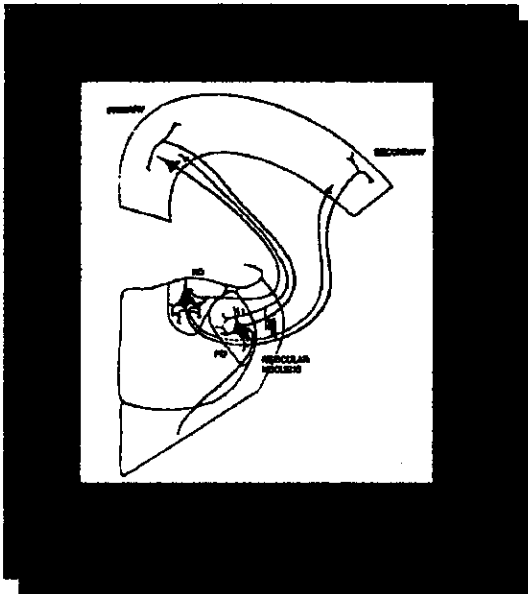


Figura 3.5. Núcleos talámicos de primer y segundo orden. Diferencias entre las conexiones aferentes recibidas por los dos tipos de núcleos. Los núcleos de primer orden (FO) reciben aferentes de la periferia y núcleos inferiores del cerebro, además reciben conexiones de la corteza que tienen colaterales en el núcleo reticular. Los núcleos de segundo orden (HO) reciben proyecciones corticales de dos tipos (Adaptado de Guillery, 1995).

núcleos de relevo primario y, un segundo tipo de proyecciones que forman sinapsis con sitios de contacto grandes y cercanos al cuerpo celular comparables a las que forman las aferentes primarias en los núcleos de primer orden. Estas proyecciones tienen origen en distintas capas corticales (Conley and Raczkowski, 1990), las primeras parten de la capa VI (como en las que llegan a los núcleos de relevo) y las segundas que se extienden también al tallo cerebral,

parten de las células piramidales de la capa V (Bourassa et al, 1994; Ojima, 1994).

Respecto al papel de las conexiones córtico-talámicas, se ha especulado que, en el caso de los núcleos de primer orden, estas podrían funcionar como moduladores de la actividad talámica ante la estimulación proveniente de las células sensoriales. A pesar de que las características generales de la codificación no se modifican con la activación córtico-talámica (Kalil and Chase 1970), hay evidencia de que produce el cambio en la modalidad de respuesta (McCormick 1992). Contar con un sistema de modulación cortical de la actividad talámica podría ser importante ya que, las conexiones provenientes del tálamo a la corteza son numerosas y los sitios sinápticos son de mayor tamaño y más cercanos al cuerpo celular que las conexiones provenientes de otras células corticales y, por lo tanto los inputs talámicos juegan un papel importante en la actividad de las células corticales.

Respecto a las conexiones corticales hacia los núcleos de segundo orden, Guillery (1995) propuso que al menos parte de estas proyecciones corticales hacia el tálamo podrían tener como propósito mandar información a los núcleos talámicos para que de ahí se mande a otras zonas corticales. De este modo planteó la posibilidad de que el tálamo participe en un sistema de comunicación córtico-cortical, en donde el tálamo funciona como relevo de información no solo proveniente de la periferia sino de distintas zonas corticales hacia otras.

Hasta el momento, sin embargo, los datos son escasos y no son concluyentes sobre la función de estas proyecciones. El estudio de las características fisiológicas y plásticas de las vías córtico-talámicas podrían mostrar los mecanismos a través de los cuales la corteza ejerce influencia en la actividad talámica para, a su vez, modular la actividad y acceso a la información de la corteza.

TÁLAMO VENTROBASAL Y EL SISTEMA SOMATOSENSORIAL

Se ha prestado gran atención a los núcleos específicos o de primer orden, ya que son estos los que reciben la información sensorial para relevarla hacia distintas zonas corticales. Uno de los núcleos sobre los que más datos se han recolectado (después del núcleo geniculado lateral que recibe información visual) es el

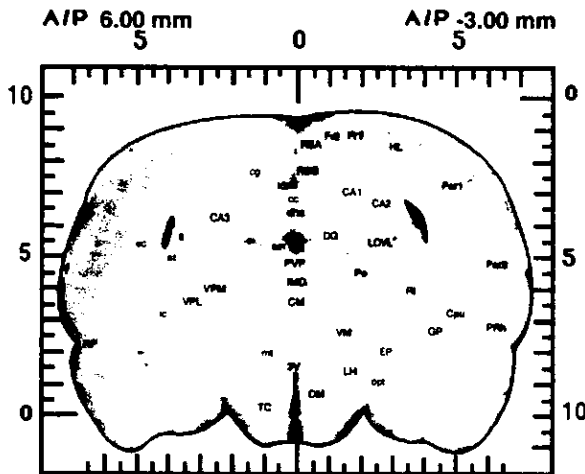


Figura 3.6. Tálamo ventrobasal: ubicación dentro del cerebro de la rata. El tálamo ventrobasal está conformado por los núcleos ventroposterior lateral (VPL) y ventroposterior medial (VPM). Además se aprecia el núcleo reticular (Rt), y las distintas zonas del hipocampo. CA1, CA2, CA3 y el giro dentado (DG).

núcleo ventrobasal⁴ (figura 3.6).

En el núcleo ventrobasal se representa la información somatosensorial, recibida a través de las fibras lemniscales, de forma contralateral en un patrón topográfico (figura 3.9). Cada parte del cuerpo se representa en mapas curvos; los mapas que representan regiones corporales vecinas se encuentran cercanos, de tal forma que el mapa total es continuo. Sin embargo, la extensión que ocupa cada mapa no es proporcional a la que ocupa la región corporal a la que representa, por lo que la representación corporal esta distorsionada. En los roedores, las áreas de representación de las vibrisas, se encuentra muy desarrollada respecto a otras áreas del cuerpo; mientras que en los primates la representación de los pies y las manos (en especial los dedos), supera al área destinada al tronco (Poggio and Mountcastle 1963, en Jones 1985). Además de la especificidad de lugar, las neuronas del tálamo ventrobasal son sensibles a la modalidad de la estimulación, son activadas sólo ante estimulación luminosa, de presión o movimiento (Dykes et al.1981; Jones et al.1982).

Las proyecciones del núcleo ventroposterior se dirigen a la primera y segunda áreas somatosensoriales (SI y SII) de la corteza (Jones and Powell, 1970; Donaldson et al, 1975; figura 3.7) donde realizan conexiones en las capas III y IV (Jones 1975; Jones and Burton 1976; ver sección de proyecciones tálamo-corticales) con

⁴ Término utilizado para referirse a las partes del tálamo ventral que recibe información somatosensorial (Rose 1935 en Jones 1985).

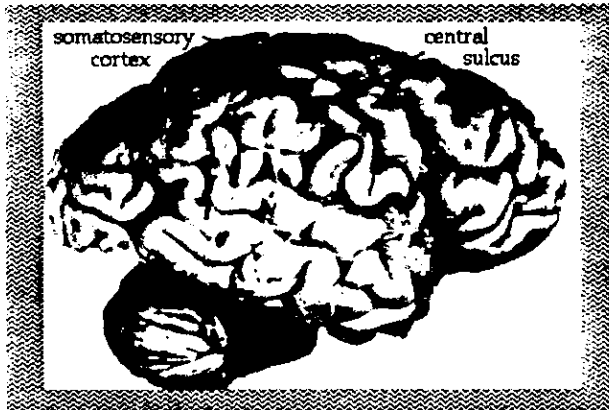


Figura 3.7. Imagen de la corteza cerebral en el cerebro humano. Rodeada con una línea verde se muestra el área somatosensorial que recibe información proveniente del tálamo ventrobasal. (tomado de <http://thalamus.wustl.edu/course>).

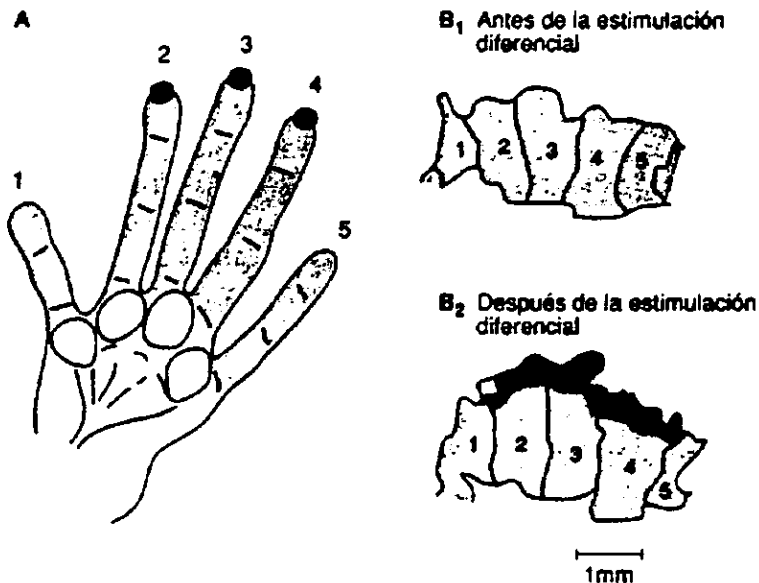


Figura 3.8. Plasticidad en la representación somatosensorial en la corteza. El área de representación para las distintas zonas corporales en la corteza, es sensible a la estimulación. Se muestra el área de representación para cada uno de los dedos de la mano en el primate antes: B1 y después B2 de la estimulación repetida en los dedos 2, 3 y 4 (A). (Adaptado de Buonomano and Merzenich, 1998)

una organización topográfica (Jones and Powell, 1970). SI está

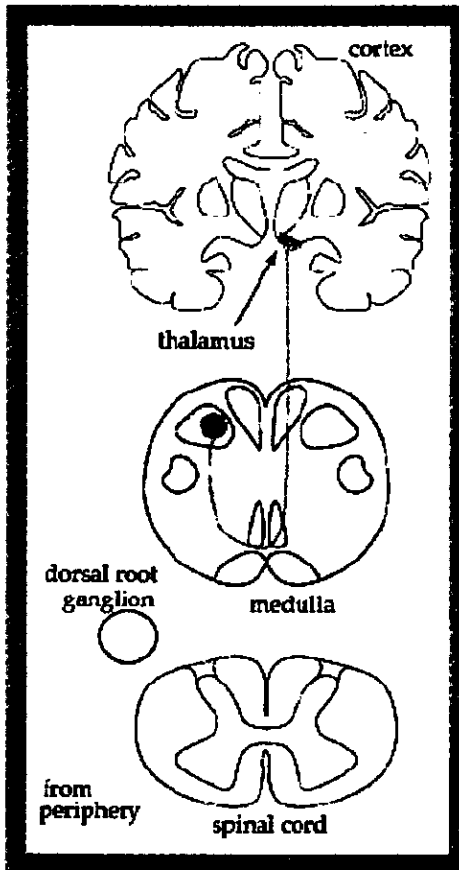


Figura 3.9. Circuito del sistema somatosensorial. Las señales recibidas por las células sensoriales de la periferia cuyos somas se concentran en el ganglio dorsal, se transmiten a través de la médula espinal donde luego de un relevo sináptico llegan al núcleo ventrobasal del tálamo, de donde la información es enviada a la corteza somatosensorial. (Adaptado de <http://thalamus.wustl.edu/course>).

conformada por pequeños parches de corteza granular y agranular pero las aferentes talámicas sólo hacen contacto en las zonas granulares formando un mapa representando las diversas zonas corporales (Wise and Jones, 1976). En el área SII se representa un segundo mapa (Jones and Powell 1969). La representación de las diversas zonas corporales en la corteza somatosensorial puede cambiar como consecuencia de modificaciones en la estimulación en partes del cuerpo (figura 3.8).

El núcleo ventrobasal recibe proyecciones corticales provenientes tanto

del área SI como de SII originadas en la capa VI (Jones et al. 1979; Burton and Kopf 1984). Estas proyecciones son finas (Tömböl

1967 Jones 1985; ver sección anterior figura 3.5). Algunos estudios han abordado el papel que podría tener la activación de estas conexiones en la actividad talámica, sin embargo los resultados, al igual que para las demás vías córtico-talámicas, son escasos y contradictorios: los efectos encontrados son inhibitorios (Shimazu et al. 1965) o facilitatorios (Andersen et al. 1967; ver sección anterior). El estudio de fenómenos plásticos podría ayudar a establecer mecanismos de influencia corticales en la actividad talámica probablemente implicados en los cambios de los patrones de ritmicidad que se observan asociados a los distintos estados de atención.

Planteamiento del problema.

El estudio del funcionamiento de las diversas estructuras que conforman el sistema nervioso es importante para el entendimiento de los procesos que hacen posible a los organismos la captación de información, su procesamiento y su almacenamiento, para la generación de conductas específicas que le permitan responder de manera rápida y acertada a las exigencias del medio.

Las aproximaciones electrofisiológicas permiten acceder al funcionamiento del sistema nervioso al mostrar la comunicación que ocurre dentro de determinados grupos de neuronas y los otros grupos con los que establecen conexiones.

Los fenómenos de plasticidad sináptica son claves en el estudio de los circuitos neurales en el SNC, ya que probablemente es a través de este tipo de modificaciones dentro de los circuitos neurales como el sistema hace frente a las exigencias del medio.

El tálamo es una estructura de vital importancia al constituir la principal entrada de información sensorial para el resto del cerebro. Los diversos núcleos talámicos establecen conexiones sinápticas con muchas estructuras; entre ellas la corteza. El tálamo a su vez recibe proyecciones de diversas zonas de la corteza que probablemente regulan su actividad.

A pesar de lo extenso de las conexiones corticales hacia el tálamo, existen pocos estudios que aborden su funcionamiento y los procesos plásticos que pudiesen exhibir; no se han reportado estudios de cambios plásticos de largo plazo para estas vías, que pudiesen permitir una regulación de la actividad talámica durante periodos de varios minutos de duración similares a los periodos que ocupan los distintos estados conductuales.

En este trabajo, mediante el método electrofisiológico de registro de campo, se estudia si la vía córtico-talámica puede expresar plasticidad sináptica de largo plazo ante la aplicación de trenes de pulsos. Así mismo se planea evaluar si la aplicación de diversas frecuencias produce efectos distintos en la respuesta de la vía (ie. LTP, LTD). Mediante la utilización de un protocolo en el que se utilizan pares de pulsos se examinarán posibles variaciones en la facilitación ante pares de pulsos con el fin de tener un indicador de si los cambios (de encontrarse) son pre o postsinápticos.

Objetivos.

A través del registro fisiológico extracelular en el núcleo talámico ventrobasal ante la estimulación mediante trenes de pulsos de diversas frecuencias, en las proyecciones corticales hacia esta estructura, se pretende:

Como objetivo general...

- Estudiar los cambios plásticos desplegados por la vía córtico-talámica ante la aplicación de trenes de pulsos de corriente de distintas frecuencias.

Como objetivos particulares...

- Examinar los efectos en el corto plazo de la aplicación de trenes de estimulación en la vía.
- Evaluar si se presenta una potenciación de largo plazo ante la estimulación de alta frecuencia.
- Determinar si la aplicación de trenes de pulsos de frecuencias bajas produce depresión de largo plazo.
- Analizar si los posibles cambios en la respuesta tras la aplicación de estimulación tetánica se acompañan de modificaciones en la facilitación ante pares de pulsos.

Método

Diseño experimental

Sujetos

Procedimiento

- Preparaciones

- Setup

- Aplicación de corriente

- Recolección de señales

- Registro

- Análisis de datos

Experimento 1.

Caracterización de cambios a largo plazo en la vía CT.

Con el fin de estudiar la posible inducción de cambios plásticos de largo plazo en las vías córtico-talámicas, se realizaron registros de la actividad sináptica aplicando trenes de estimulación utilizando distintas frecuencias. Para ello se empleó la técnica de registro de campo en secciones de tejido en las que las vías de interés fuesen preservadas, mediante el corte especial del cerebro como se describe en la sección de técnicas. Se utilizó un diseño experimental en el que se tomaba una línea base, previa a la aplicación de los trenes de pulsos; tras los cuales se regresaba a las condiciones de la línea base durante un periodo de tiempo que permitiera observar los cambios y su mantenimiento en el tiempo (figura.4.1.1)

SUJETOS



Para el presente trabajo se utilizaron como sujetos a 30 ratones adultos machos, de la línea balb-c. Estos animales contaban entre treinta y sesenta días de vida al momento de ser sacrificados.

Los sujetos estuvieron a cargo del departamento de Cuidado Animal del Instituto-Hospital Neurológico de Montreal, en donde permanecieron en cajas de acrílico de manera individual o en grupos de hasta cinco individuos y contaron con libre acceso a agua y comida. Ninguno de ellos había participado en ningún protocolo experimental.

PROCEDIMIENTO

Este trabajo se realizó mediante el registro de potenciales de campo en secciones de cerebro en que se preservaron las vías córtico-talámicas. La medición de potenciales de campo consiste en el registro de los cambios de voltaje que se originan por la entrada y salida de iones de las células, a través de un electrodo colocado en el espacio extracelular. Dado que en el espacio extracelular la dilución de los iones en el líquido es mayor, la señal obtenida es muy pequeña por lo que es necesario amplificarla hasta niveles registrables y, al mismo tiempo, disminuir al máximo el ruido.

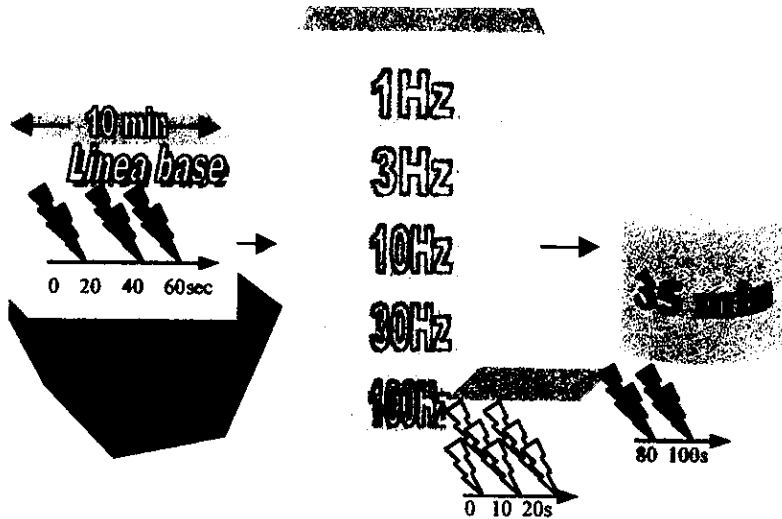


Figura 4.1.1. Diseño experimental. Se llevaron a cabo registros extracelulares in vitro en las vías córtico-talámicas. Los registros iniciaron con una línea base de 10 minutos durante la cual se aplicaron pares de pulsos con 50ms de separación entre ambos cada 20s. Posteriormente se aplicaron 6 trenes de estimulación de 100 pulsos con alguna de 5 distintas frecuencias (1Hz, 3Hz, 10Hz, 30Hz ó 100Hz) cada 10s. Finalmente se regresó a las condiciones de línea base durante un periodo mínimo de 35 minutos.

Preparaciones

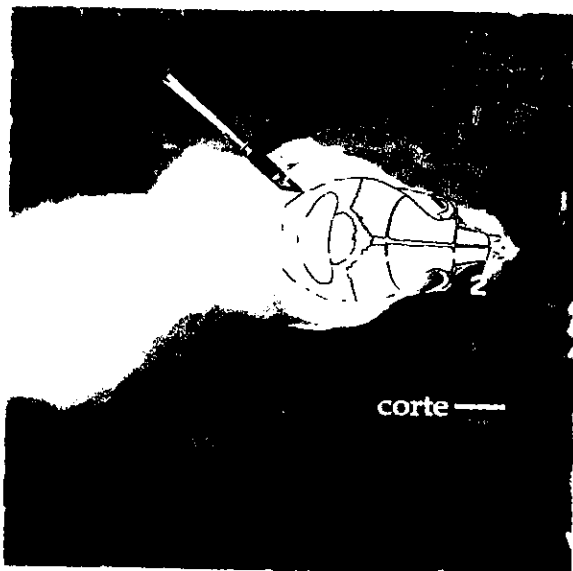
El registro de potenciales de campo requiere contar con el tejido que se va a medir. Para realizar las preparaciones, el primer paso es extraer el cerebro del animal, la manera de llevarlo a cabo varía de un protocolo a otro y de un laboratorio a otro, dependiendo del área en la que se pretende registrar y de las preferencias

personales del experimentador. Sin embargo es importante extraer el cerebro lo más rápido posible, ya que el tejido nervioso es muy sensible a la falta de oxígeno. De este paso depende en gran medida el éxito de los registros. A continuación se describe el procedimiento utilizado en la realización de las preparaciones para los experimentos aquí reportados.

A. Se extrajo el cerebro del animal de la siguiente manera: en el animal previamente anestesiado con .05ml de ketamina administrada por vía intraperitoneal, se realiza una incisión en la cabeza dejando visible el cráneo. A la altura de lambda se introduce una punta de tijeras y se corta el cráneo dibujando una T. Con la ayuda de unas pinzas se levantan ambos lados del cráneo exponiendo la superficie del cerebro. Este se extrae inmediatamente y se introduce en solución de disección (Figura 4.1.2) a baja temperatura que contiene oxígeno, sucrosa y diversas sales en concentraciones similares a las fisiológicas aunque con una baja concentración de calcio para disminuir la actividad (figura 4.1.3).

B. Para obtener las secciones en las que se realizarían los registros, se cortó el cerebro por la línea media y uno de los hemisferios se fijaba en una plataforma de acrílico, cuya forma permitía una posición inclinada del hemisferio de tal manera que al ser cortado, se preserven las fibras nerviosas que comunican a la corteza con los núcleos talámicos (Connors, 1991). Esta plataforma se colocaba en un vibratomo, dentro de una caja conteniendo

PREPARACIONES



corte



Figura 4.1.2. Obtención de preparaciones

CONTINUARA...



también la solución de disección y oxigenada constantemente. El vibratomo es un aparato que permite cortar el cerebro en secciones finas sin dañar excesivamente el tejido por medio de una navaja que vibra horizontalmente a una alta frecuencia (figura 4.1.2).

Mediante este procedimiento se obtuvieron tres o cuatro secciones con un grosor de .4mm por cada animal sacrificado y se colocaron en otro buffer o solución de registro en el que no se añadía sucrosa (Figura 4.1.3), hasta el momento de ser utilizadas. Una vez realizado lo anterior el material de trabajo esta listo para ser utilizado. Se describe ahora el equipo que se requiere para realizar los registros.

Setup

Como se mencionó al principio de esta sección, para el trabajo experimental se utilizó la técnica de registro de campo o registro extracelular. Esta técnica se utiliza principalmente para realizar registros de actividad sináptica en cortes de cerebro. El equipo que se utilizó en la realización de los registros puede dividirse en tres categorías de acuerdo a su función: elementos para la generación de un ambiente propicio, ópticos y de registro.

1. Ambiente.

Dado que se trata de tejidos vivos es indispensable, durante el registro, contar con un sistema que genere un ambiente en el que

Soluciones

Solución de Disección.

En 3l:

KCl 0.31gr.

NH_2PO_4 0.34gr.

NaHCO_3 4.37gr.

MgSO_4 1.63gr.

Colocar 230ml en hielo y oxigenar durante 20 minutos.

Añadir:

Sucrosa 18.2gr.

Dextrosa 0.45gr.

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5ml 1mM

En hielo, continuar oxigenación.

Solución de Registro

En 3l:

NaHCO_3 20mM

KCl 3mM

Na_2HPO_4 1.20mM

Na_2HPO_4 20mM

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3mM

Oxigenar 50ml durante 10 minutos

Añadir:

Sucrosa 14.6M 4.50gr.

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.5mM 1.25ml

Continuar oxigenación.

las células se mantengan en condiciones lo más cercanas posible a las que se encontraban *in vivo*. Ello requiere la perfusión de solución con iones y la oxigenación constante.

Para este fin se utilizó de una charola de interfase en la que el tejido es colocado sobre una fina red a través de la cual se hacia fluir lentamente (1ml/min) solución de registro contenida en un recipiente conectado a la charola a través de un fino tubo que permitía regular el paso de líquido. Como la rodaja no se encuentra sumergida, es posible la liberación de oxígeno directamente en el



Figura 4.1.4. Sistema de intersase. La preparación se coloca sobre una red que cubre la charola de interfase, a través de la cual fluye líquido al que se le regula la temperatura. En la parte inferior se introduce oxígeno que sube a la charola de interfase.

aire que la rodea, con lo cual se reduce el riesgo de anoxia. El oxígeno fue introducido a la charola a través de otro tubo que se encontraba conectado a un tanque de este gas. Además se utilizó un sistema de regulación de temperatura para mantenerla constante en la charola de registro a 31° C (Figura 4.1.4).

2. Ópticos.

Para situar los electrodos en la preparación se requiere un microscopio que pueda ser ubicado a suficiente distancia de la preparación. En este caso se utilizó un microscopio de campo que se colocó a 15cm de la preparación y proporcionó el aumento suficiente para ver las características generales del corte (Figura 4.1.5).

3. Detección y amplificación.

Para realizar los registros, se utilizaron dos electrodos: uno de estimulación para inyectar corriente en la preparación y otro para registrar la respuesta ante la estimulación aplicada. Ambos electrodos se conectaron a micromanipuladores mecánicos que permitieron su desplazamiento preciso (figura 4.1.4 y figura 4.1.5).

El electrodo de estimulación es un alambre rígido de acero inoxidable aislado con teflón con excepción de la punta, conectado a una caja de aislamiento, similar a una pila, que permite regular de forma muy precisa la cantidad de corriente aplicada. El electrodo de registro, por su parte, consistió en una pipeta de punta muy

aguda (1/10mm) llena con solución de registro (figura 4.1.3). En el interior de la pipeta se colocó un alambre de plata clorado que se hallaba en contacto con un headstage¹.

En los registros extracelulares la señal que se recoge con el electrodo de registro es muy pequeña, generalmente de menos de 1 mV, debido a que la corriente generada por las células se diluye fácilmente en el líquido; por ello se debe amplificar la señal. La señal era amplificada 10 veces por el headstage y se utilizó un amplificador para aumentarla 100 veces más. El amplificador se utilizó también para filtrar la señal para detectar solo los cambios de voltaje que sean graduales, característicos de la respuesta de una población de neuronas excluyendo las variaciones causadas por neuronas individuales (figura 4.1.6).

Aplicación de corriente.

La corriente introducida en la preparación a través del electrodo de estimulación cumplió dos funciones: la primera; monitorear la manera en que las neuronas talámicas responden ante la estimulación de las células corticales con las que comparten sitios sinápticos. La corriente se aplicó a intervalos de 20 segundos, un intervalo suficientemente largo para que la corriente utilizada en esta forma no alterase la comunicación de la vía. La segunda, función fue la de ser la variable independiente al ser aplicada en

¹ El headstage es un aparato que recibe la señal, el que se utilizó en este

trenes de pulsos de distintas frecuencias, para después observar los cambios que esto provocó en la comunicación entre los grupos de neuronas implicados, comparando las respuestas antes y después de la estimulación tetánica.

Para controlar la aplicación de pulsos a la preparación, en el laboratorio en el que se realizaron los experimentos, se contó con un aparato llamado Master 8. Este aparato cuenta con ocho canales dos de ellos para entrada de señales y los seis restantes para la salida de pulsos. Master 8 permite realizar hasta 9 programas para controlar los pulsos de corriente que a través de alguno de los canales de salida se envían a uno o varios electrodos de estimulación. Al recibir una señal manual o proveniente del ordenador Master 8 aplica la cantidad de pulsos con los intervalos adecuados de acuerdo con el programa que se encuentre activado en ese momento. Su utilización simplificó la cantidad de información necesaria para hacer los registros en los programas en la computadora.

Durante la realización de los registros, las señales provenientes del ordenador fueron recibidas a través del canal #1 de Master 8. Los distintos programas daban su salida a través del canal #4 hacia el electrodo de estimulación. Una segunda señal, partía de este aparato por el canal #7 activando un osciloscopio que mostraba la señal que en ese momento recibiera proveniente del

caso, además ampliaba dicha señal 10 veces.

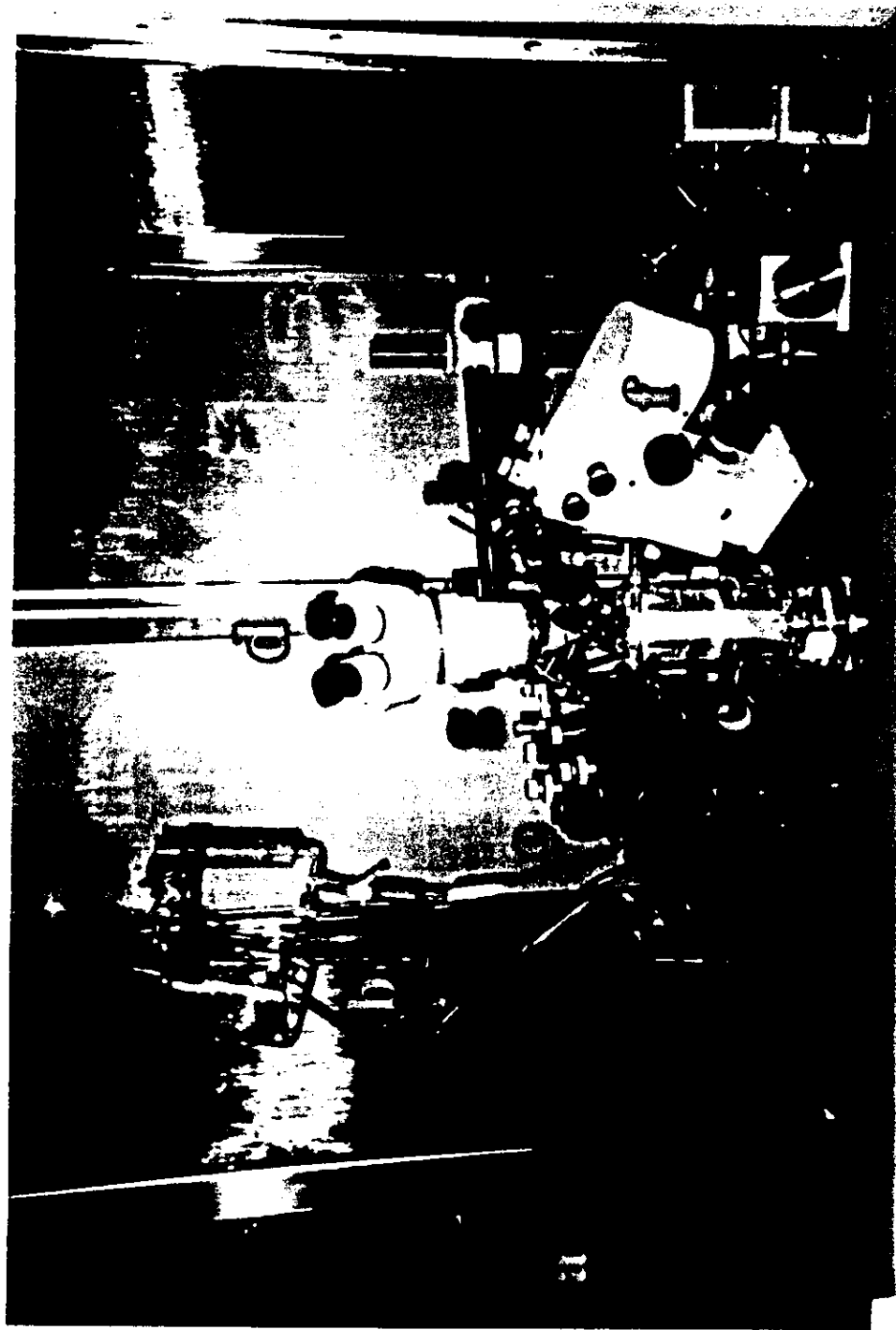


Figura 4.1.5. Setup. Está conformado por equipo de ambiente: a)oxígeno, b)buffer, c)charola de interfase; ópticos: d)microscopio, y, equipo de registro: e y f)micromanipuladores, g y h)electrodos de estimulación y de registro e, i)caja de aislamiento.

77

electrodo de registro. A continuación se presentan las características relevantes de programas realizados en Master 8 directamente implicados en los registros. Estos fueron tres:

El primero, al que llamaré “programa 2” fue realizado para la aplicación de pares de pulsos separados entre sí por un intervalo de 50ms a través del canal #4 ante la señal de la computadora recibida en el canal #1. Este programa se utilizó durante el registro de la línea base y el periodo posterior a la aplicación de los trenes de pulsos. El segundo programa, al que llamaré “programa 5”, se utilizó para administrar una serie de 6 trenes de 100 pulsos cada uno. Cada tren se aplicaba a través del canal #4 ante la señal proveniente del ordenador por el canal #1. Estos trenes de 100 pulsos tenían cierta frecuencia fijada de antemano (1hz, 3hz, 10hz o 30hz), el intervalo entre los trenes fue de 10 segundos. En este caso Master 8 enviaba además una señal a la computadora para que ella registrara la respuesta a cada pulso administrado.

El último programa (“programa 3”) fue utilizado para la aplicación de los seis trenes con la frecuencia de 100hz. Esta frecuencia recibió un trato distinto porque no había tiempo suficiente para que la computadora registrase la respuesta a cada pulso de forma independiente. El programa consistía en la liberación de un tren de 100 pulsos con una frecuencia de 100hz ante la señal de la computadora; esta al enviar la señal registraba de manera continua durante un segundo y medio, tiempo suficiente para coleccionar las 100 respuestas. En este caso la computadora

estaba programada para enviar la señal seis veces a intervalos de 11 segundos, con lo que el diseño experimental se mantuvo constante.

Recolección de señales

Es necesario contar con algún sistema de registro de los cambios de voltaje que ocurren en la preparación. Hace unos años el registro se llevaba a cabo con aparatos similares a los sismógrafos, que representaban las oscilaciones de voltaje en papel. Sistemas de este tipo aun se utilizan en algunos equipos de registro de electroencefalográfico. En la actualidad, en cambio, la mayor parte de los equipos están conectados a una computadora tanto para registrar las señales detectadas por el electrodo de registro, como para el control de la aplicación de pulsos.

Tanto para controlar la aplicación de pulsos como para registrar las señales se utilizó una fabricada por la compañía DELL. Este ordenador se encontraba conectado a una caja detectora cuya función fue la de ser el intermediario de la computadora tanto para comunicarse con master 8 como para recibir las señales provenientes del amplificador (figura 4.1.6).

Durante los registros se utilizó el programa Brain Wave del sistema operativo DOS, para experimentos electrofisiológicos, que se encontraba cargado en el ordenador antes descrito. Este programa permite diseñar otros programas para el control de la aplicación de pulsos de corriente y la recolección de las señales provenientes de los electrodos de registro de acuerdo con el

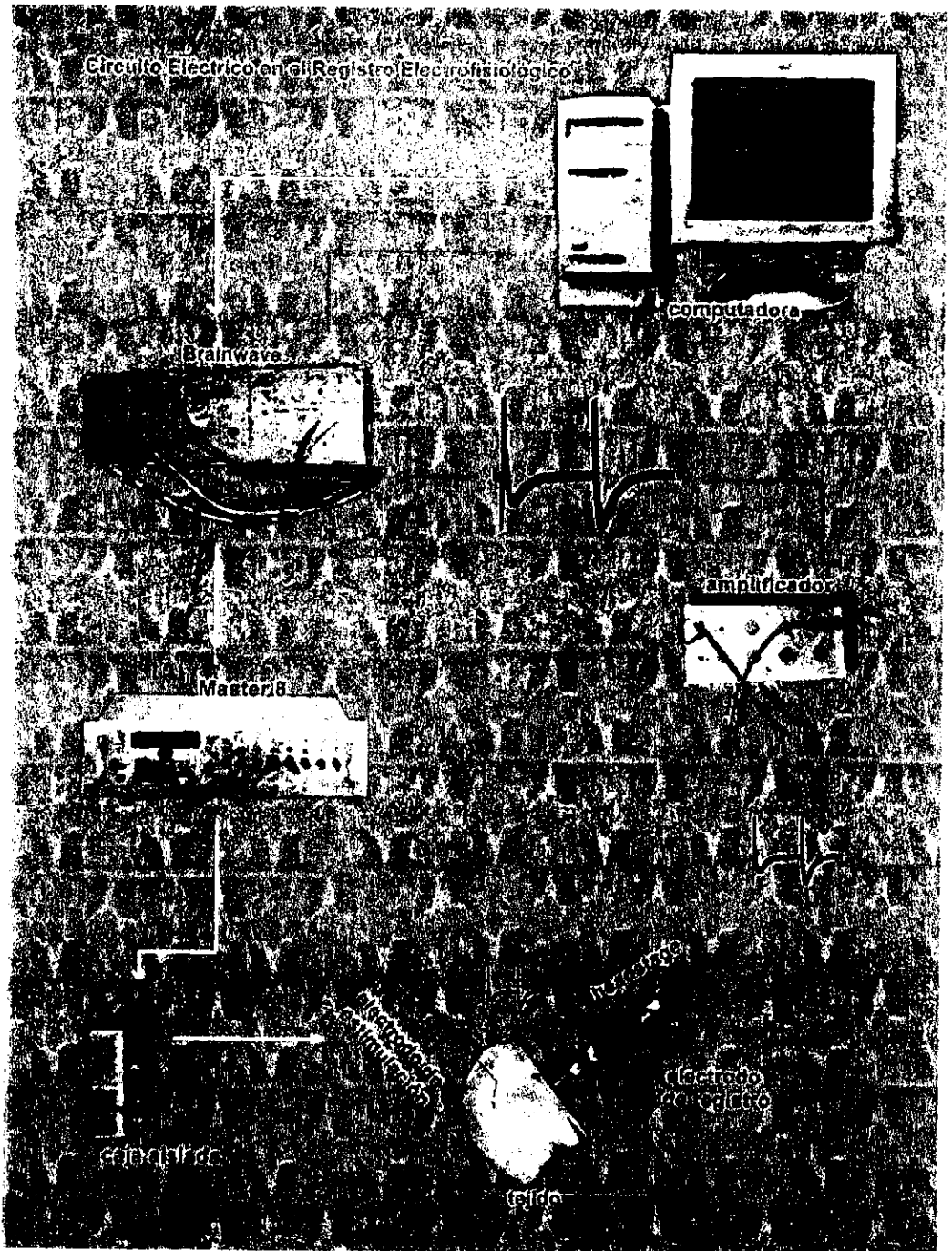


Figura 4.1.6. Circuito de registro. La computadora envía una señal para estimular la preparación y la respuesta que se obtiene es amplificada antes de ser registrada.

protocolo específico que se desee utilizar. Además permite mostrar en tiempo real los datos recolectados, así como realizar diversos análisis conforme estos datos son colectados en el ordenador. El programa cuenta con la posibilidad de editar y realizar mediciones en los datos colectados y guardarlas para su posterior análisis con otros programas estadísticos.

Se diseñó un programa para realizar los registros reportados; este contaba con un menú de tres opciones al que se podía acceder en cualquier momento durante el registro. Cada una de las opciones fue creada para funcionar con alguno de los tres programas de Master 8. A continuación se describe en que consistió cada una de las opciones, que programa de Master 8 le correspondió y cual fue su función durante la realización de los registros.

La primera opción se utilizó para el registro de la línea base, así como para el registro durante los minutos posteriores a la aplicación de los trenes de 600 pulsos. En esta opción la computadora mandaba una señal a Master 8, en el que se encontraba activado el programa 2. La computadora entonces registraba la señal proveniente del amplificador durante los siguientes 100ms. La segunda opción se utilizó para la aplicación de los trenes de estimulación de las distintas frecuencias que se utilizaron, con excepción de la frecuencia de 100hz. En esta opción la computadora esperaba la señal proveniente de Master 8 y registraba la señal amplificada proveniente del electrodo de registro

durante 15ms. En este caso se utilizaba el programa 5 de Master 8. La tercera opción del menú se diseñó para la aplicación de la frecuencia de 100hz. En este caso la computadora enviaba 6 señales con un intervalo de 11s entre sí. Cada una de estas señales activaba Master 8, quien debía encontrarse en el programa 3 y enviaba 100 pulsos con una frecuencia de 100hz a la preparación. En este caso, el programa registraba de forma continua la señal del amplificador durante un segundo y medio tras el envío de cada señal.

El programa guardaba todas las respuestas colectadas durante el registro en un archivo en el que además se tomaba el tiempo en el que cada una fue colectada. A partir de estos archivos iniciales se realizaron todos los análisis de los datos.

Registro

Para cada registro se colocaron dos electrodos en cada una las secciones obtenidas: un electrodo de estimulación en la zona en donde se agrupan las fibras de las células corticales, que proyectan hacia el tálamo². Un segundo electrodo, de registro, se situó en la zona del tálamo, donde se concentran las células inervadas por las neuronas cuyos axones eran estimulados. Los registros se realizaron en el núcleo ventrobasal que recibe la información sensorial de la periferia y cuyos axones proyectan a la zona

² . Esta zona se encuentra entre el estriado y los núcleos talámicos.

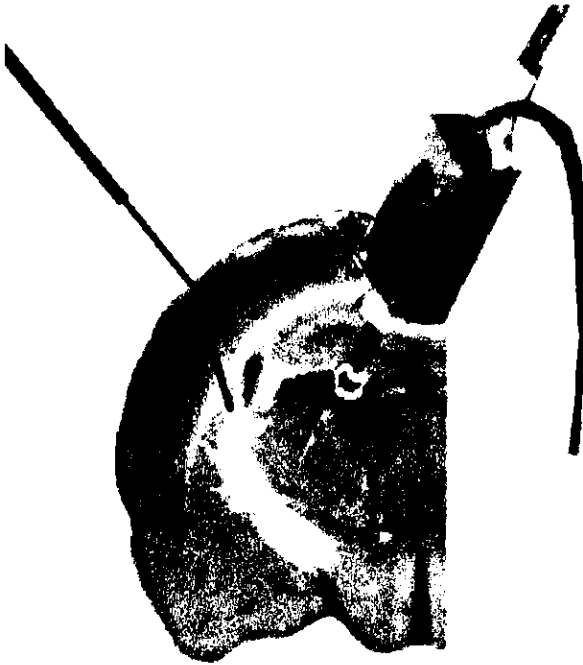


Figura 4.1.7.
Posición de los
electrodos en la
sección. El
electrodo de
registro (derecha)
se coloca en el
tálamo
ventrobasal y el
electrodo de
estimulación es
colocado en el
lugar de reunión
de las fibras
córtico-talámicas
(izquierda).

sensorial primaria; las fibras corticales que conectan con las células de este sitio provienen de la capa VI de la corteza (figura 4.1.7).

Cabe señalar que usualmente se utilizan bloqueadores de los receptores GABA (ie. Bicoculina, picrotoxina) en los registros electrofisiológicos realizados *in vitro*. Estos bloqueadores usualmente se añaden, en el líquido de perfusión ni en la micropipeta de registro, con el fin de desinhibir la preparación facilitando la detección de potenciales evocados y la obtención de cambios plásticos.

En el caso de las células talámicas, conexiones inhibitoras provienen del núcleo reticular al que, los axones corticales que

proyectan a los distintos núcleos talámicos mandan colaterales. Las células reticulares mandan conexiones a los demás núcleos talámicos inhibiendo su actividad. En registros preliminares se añadió bicuculina a la micropipeta de registro en una concentración de 0.4mM; sin embargo se optó por suspender su uso por el papel relevante del núcleo reticular en el circuito tálamo-cortical, los registros en la ausencia de esta interacción podrían contribuir a distanciar los resultados del funcionamiento de estas estructuras en las condiciones encontradas *in vivo*. Por lo tanto, en la realización de los registros aquí reportados no se añadió bloqueador alguno de los receptores GABA.

Para registrar el potencial evocado de las células talámicas, los electrodos se colocaron en múltiples sitios aplicando pulsos de corriente hasta encontrar la posición, en la que fuese posible registrar una respuesta, ya que las conexiones de las células corticales se tornan difusas al llegar a los núcleos talámicos. Esto contrasta con las vías hipocampales, corticales, o cerebelares, en las que las fibras siguen un patrón laminar, fácil de identificar.

La intensidad de corriente a aplicar en cada pulso se fijaba dentro de un rango de .06mA a .2mA. a través de la caja de aislamiento (figura 4.1.5); una vez fijada, se mantenía constante a lo largo de todo el registro. Cada registro se inició con la toma de una línea base de 10 minutos de duración, que consistió en la aplicación de pares de pulsos con 50ms de intervalo entre ellos, cada veinte segundos. Después de una línea base estable, se

aplicaban seis trenes de 100 pulsos cada uno, con intervalos entre sí de 10 segundos. Los trenes de estimulación podían tener una de cinco frecuencias: 1hz, 3hz, 10hz, 30hz, 100hz, siendo la misma para los seis trenes administrados a cada preparación. Después de esta estimulación se repetía el procedimiento utilizado para la línea base manteniéndose por al menos cincuenta minutos. Es importante señalar que se aplicaron distintas frecuencias en cada una de las preparaciones provenientes de un mismo sujeto para evitar un sesgo en los resultados que pudiera ser atribuido a diferencias entre animales.

Inicialmente se aplicaban trenes de 900 pulsos sin intervalo, sin embargo, mediante este procedimiento, el resultado era invariablemente una depresión -o la total desaparición- de la respuesta sináptica (datos no presentados), tras analizar el comportamiento de la respuesta dentro a través de los 900 pulsos, se estableció que después de aproximadamente 100 pulsos la amplitud, antes en aumento, comenzaba a disminuir hasta desaparecer por completo a los 300 pulsos aplicados. Así pues, se decidió dividir la estimulación en trenes de 100 pulsos separados entre sí por un periodo de 10 sec y, reducir el número total de pulsos a 600.

Análisis de datos.

La evaluación de los cambios de la respuesta sináptica como resultado de la administración de una de las frecuencias de

estimulación, incluyó la utilización de programas realizados a partir de Brain Wave y mediante el uso de los programas estadísticos, Origin y Systat.

Se diseñó un programa en Brain Wave que hacía posible el corte de porciones de los archivos iniciales. A partir de estos archivos iniciales, que contenían la totalidad de las trazas colectadas a lo largo de todo el registro, se obtuvieron dos archivos parciales, el primero con el conjunto de todas las trazas obtenidas durante el periodo de la línea base y el segundo con las correspondientes al periodo posterior a la aplicación de los 6 trenes de 100 pulsos.

Las trazas representativas para cada archivo que se muestran en la parte superior de las gráficas de los registros se obtuvieron a partir de los archivos parciales. Mediante otro programa diseñado en Brain Wave, se promediaron entre 10 y 20 respuestas consecutivas dentro de los últimos 5 min de línea base y otra dentro del periodo de 30 a 35 min del registro posterior a la aplicación del tratamiento experimental.

Utilizando un tercer programa también diseñado desde el mismo paquete, se midió la amplitud de los potenciales evocados para el primer y segundo pulso de los pares de estímulos administrados durante la línea base y los posteriores a la aplicación de los 600 pulsos, estos valores se guardaron en archivos ASCII para hacer posible su exportación a otros paquetes para posteriores análisis. De esta manera, por cada archivo parcial se obtuvieron dos

series de valores, la primera correspondiente al primer pulso de cada par y la segunda correspondiente al segundo pulso.

Todos los datos obtenidos de la manera descrita se concentraron en “proyectos” creados en el programa Origin. Cada proyecto concentraba los archivos de los registros correspondientes a cada una de las frecuencias utilizadas, es decir, había 5 proyectos. Como primer paso, se transformaron todos los valores a una escala de mV corrigiendo la amplificación realizada en la colección de los datos³.

Posteriormente se realizó un promedio de la amplitud de la respuesta de los últimos cinco minutos de línea base (Pl), así como de un periodo similar 30 minutos después de la aplicación de los 600 pulsos (Pp). Para obtener un índice del cambio en la amplitud luego de la aplicación de la estimulación tetánica (LTP), que permitiera la comparación de los distintos registros, el promedio correspondiente a la línea base se consideró como 100% y a partir de este valor se calculó el porcentaje de cambio como consecuencia de los trenes de estimulación.

$$LTP = (Pp * 100\%) / Pl$$

Para evaluar los cambios de corto plazo en la magnitud de la respuesta sináptica como consecuencia de la aplicación de los trenes de estimulación (Ppt), se utilizó un procedimiento similar, en el que el promedio obtenido para la línea base fue comparado con

el valor promedio de la respuesta durante los primeros dos minutos posteriores a la conclusión de la estimulación tetánica (P2').

$$P_{pt} = (P2' * 100\%) / P1$$

Para calcular el cambio en la relación entre el primer y segundo pulso de los pares aplicados a lo largo del registro, se calculó el valor de la facilitación obteniendo el valor del aumento del segundo pulso (E1) respecto al primero (E2),

$$PPF = (E2 * 100) / E1$$

y calculando el promedio de la facilitación durante los últimos 5min de la línea base (PPF1) y otros 5min media hora después (PPF2). El promedio de la línea base se consideró como 100% y contra este valor se comparó el promedio obtenido 30min más tarde. De esta manera se obtuvo un índice de la modificación de la relación entre los pares de pulsos antes y después de la aplicación de la estimulación (cPPF).

$$cPPF = (PPF2 * 100) / PPF1$$

En el caso de las gráficas de los promedios por grupo, se obtuvieron mediante la estandarización de los registros, para cada registro se tomó el promedio de la línea base (P1) como 100% y a partir de ahí se calcularon los valores de la amplitud estandarizada (AN) durante todo el registro.

³ Mediante su división entre 1000.

$$AN = (A * 100) / PI$$

Los archivos estandarizados se exportaron al programa Excel donde se obtuvo el promedio de la respuesta por minuto promediando los valores de la amplitud de tres trazas.

Resultados

Como resultado de la repetida estimulación de las conexiones corticales hacia el núcleo ventrobasal del tálamo, se observaron cambios de corto y largo plazo en la amplitud de los potenciales evocados. Estos cambios se observaron tanto en presencia como en ausencia del bloqueador de receptores GABA bicoculina (figura 4.2.1, 4.2.2 y 4.2.3).

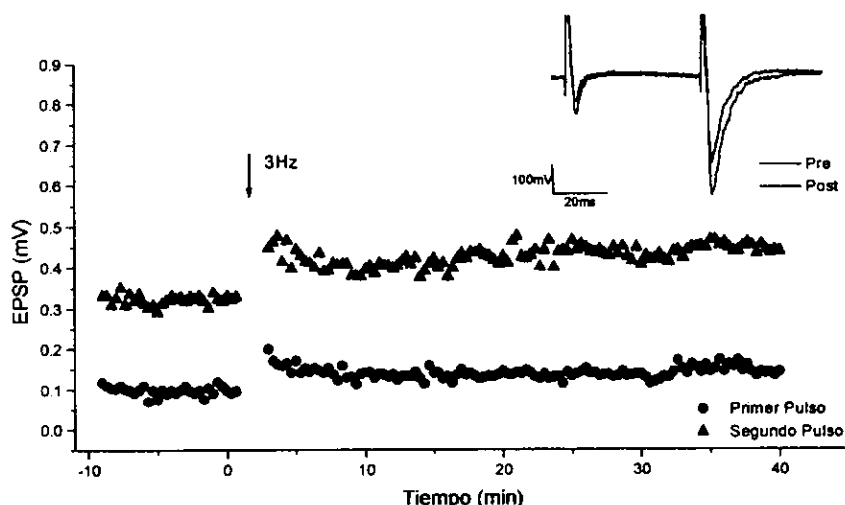


Figura 4.2.1. Registro de potenciales de campo en las vías córtico-talámicas en secciones de cerebro. En la gráfica se muestra la amplitud de los potenciales evocados registrados respecto al tiempo para el primer (círculos negros) y el segundo (triángulos rojos) pulsos de los pares administrados a la preparación cada 20 segundos. La flecha indica el momento en el que se administraron seis trenes de 100 pulsos con una frecuencia de 3Hz. En la parte superior se muestran superpuestas las trazas promedio correspondientes a los últimos cinco minutos previos a la administración de los trenes de pulsos y para un periodo similar 30min después de su conclusión. El registro se realizó en presencia de 400 μ M bicoculina en la micropipeta.

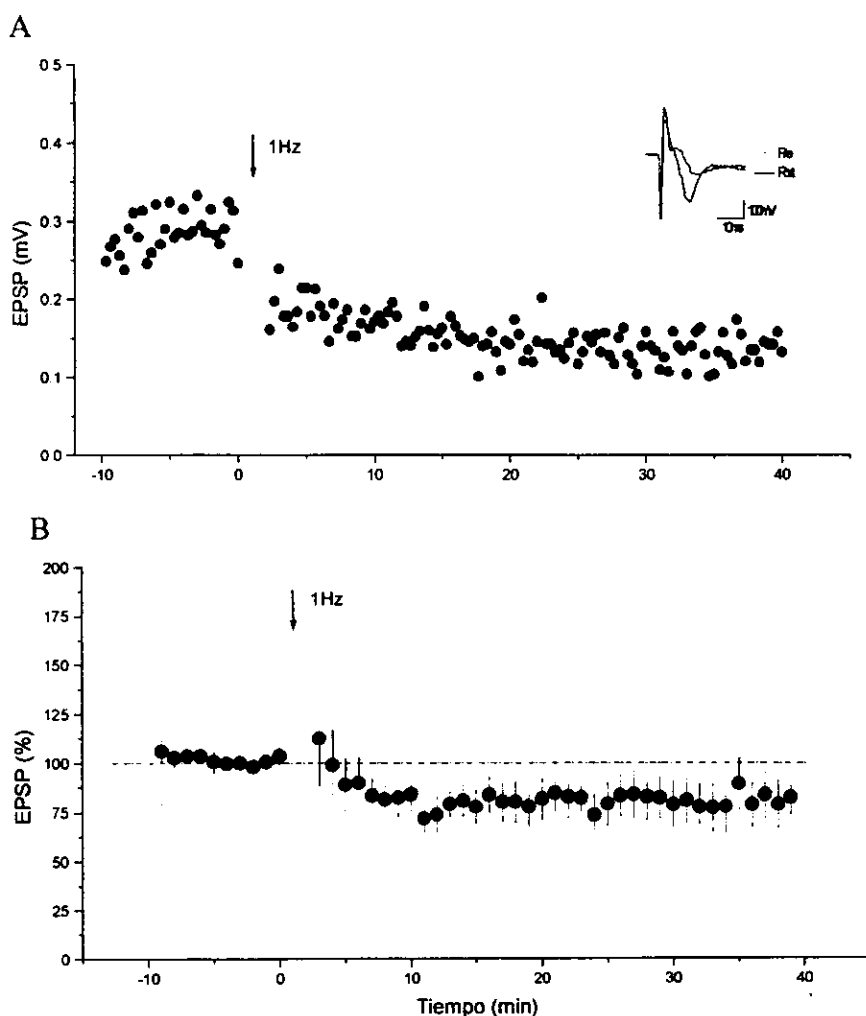
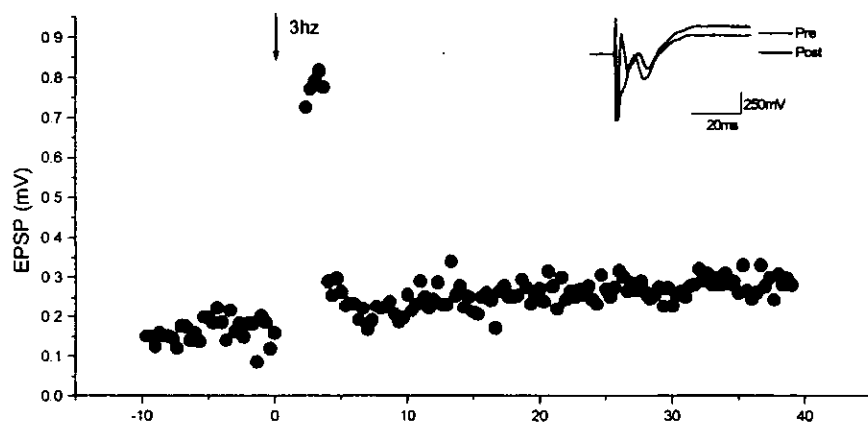
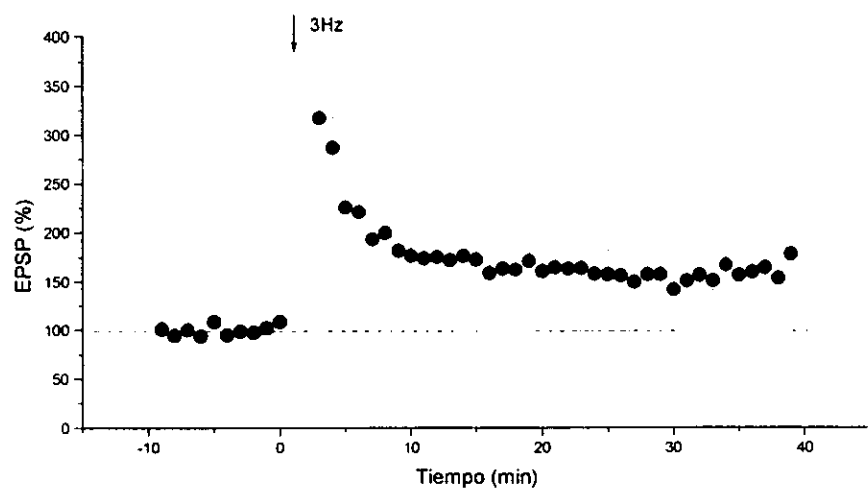


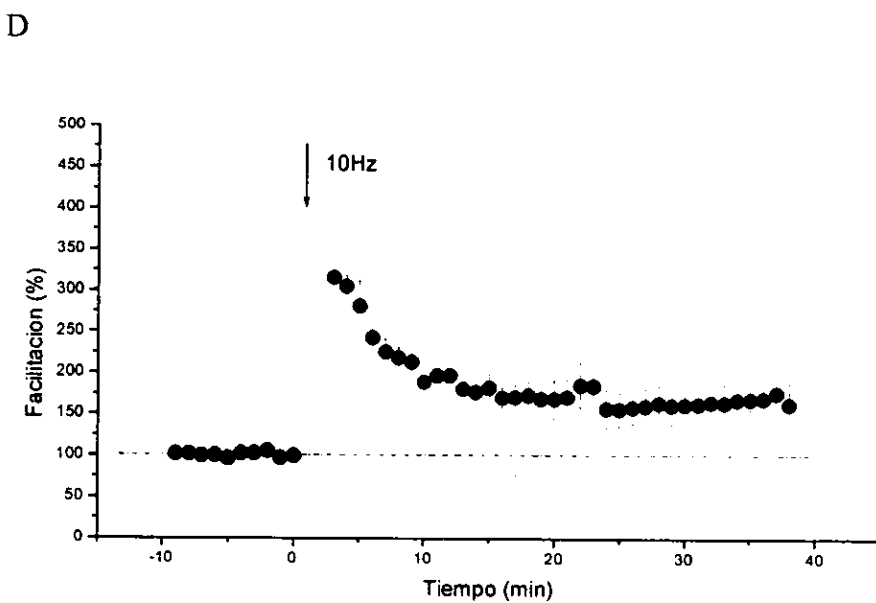
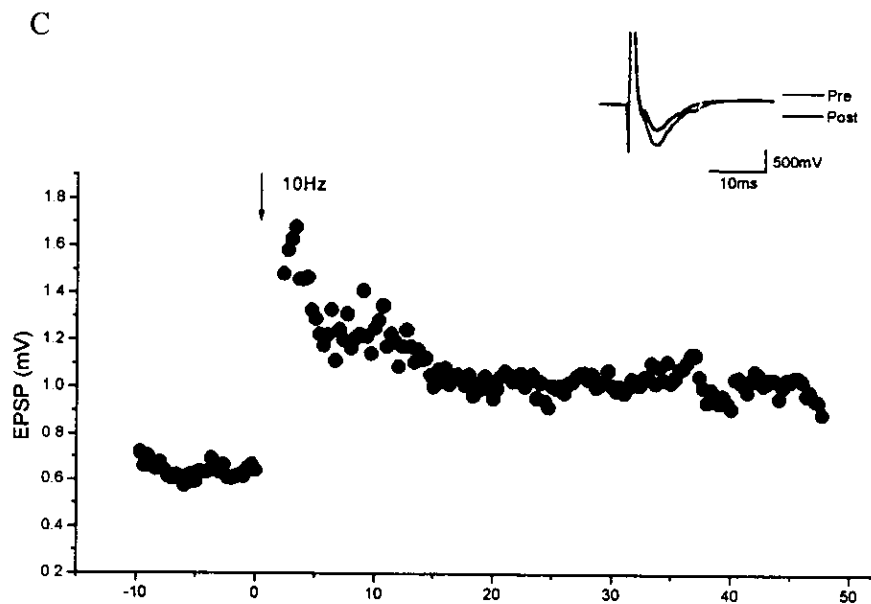
Figura 4.2.2. Depresión de largo plazo (LTD) ante la aplicación de estimulación con una frecuencia de 1Hz. A. Registro típico; en la gráfica se muestra la amplitud de la respuesta ante el primero de los pares de pulsos aplicados cada 20 segundos respecto al tiempo. Después de la obtención de una línea base (tiempo medido en números negativos), se aplicaron seis trenes de 100 pulsos con una frecuencia de 1hz (flecha). En la parte superior se muestran las trazas promedio correspondientes a periodos similares del registro que las que se muestran en la figura 1. B. Se muestra el promedio por minuto de la amplitud de respuesta para 7 registros en los que se aplicó la frecuencia de 1Hz.

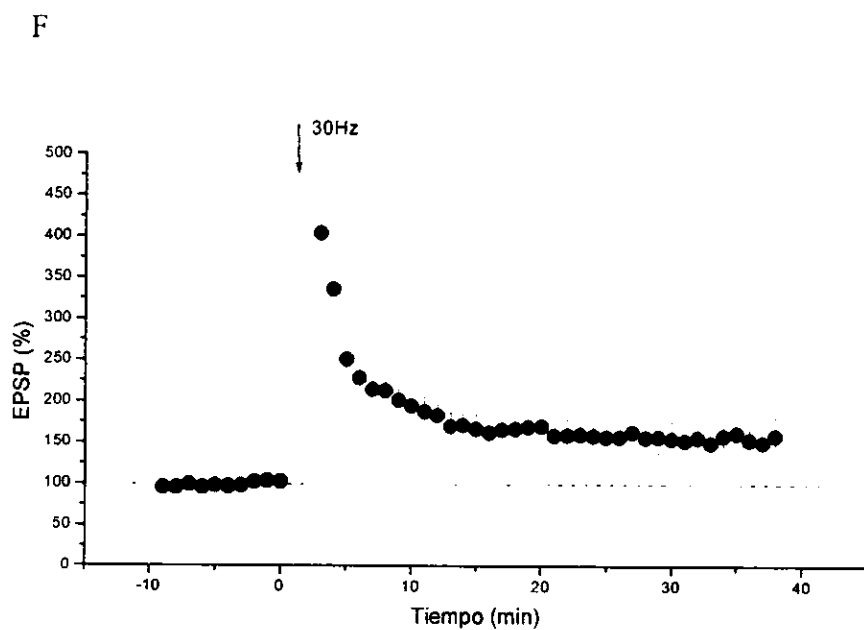
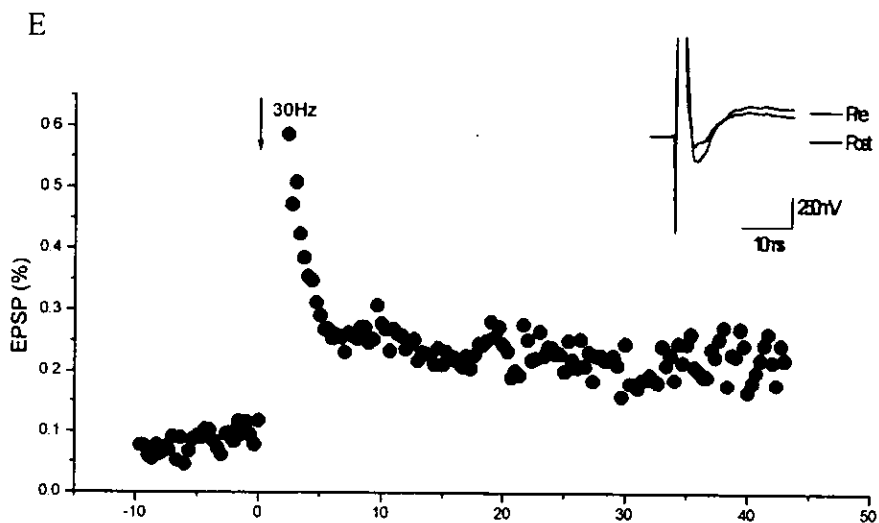
A



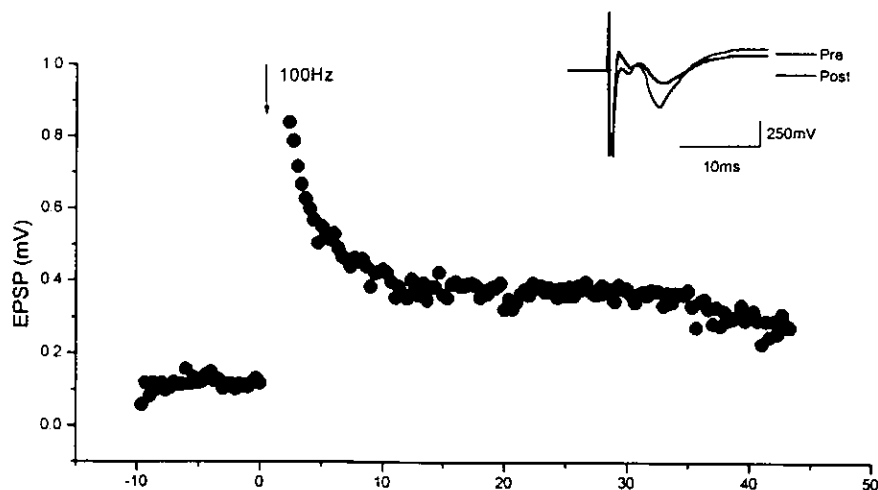
B







G



H

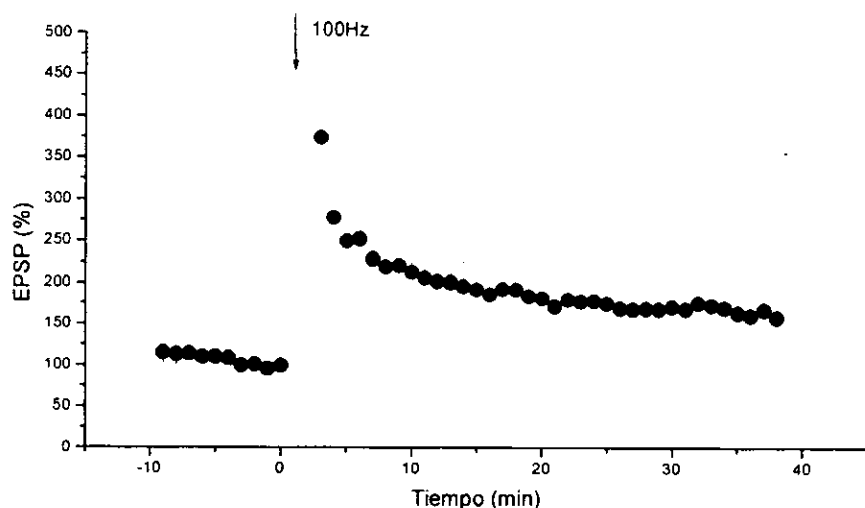


Figura 4.2.3. Potenciación a largo plazo en la vía córtico-talámica. Registros típicos (A, C, E y G) y amplitudes promedio por minuto (B, D, F y H) para cada una de las frecuencias aplicadas, 3Hz (7 registros; A y B), 10Hz (6 registros; C y D), 30Hz (8 registros; E y F) y 100Hz (8 registros; G y H). En las gráficas se muestran las amplitudes de la respuesta sináptica ante la estimulación con pares de pulsos a través de 1 tiempo. Las flechas indican el momento en que se aplicó la estimulación tetánica con la frecuencia a un lado indicada. En la parte superior de los registros típicos se muestran trazas promedio antes y después de la aplicación de los trenes de estimulación obtenidas en periodos similares a las que se muestran en las figuras 1 y 2.

En el largo plazo, se encontraron, incrementos persistentes en el tiempo, en la amplitud de la respuesta con la aplicación de trenes de estimulación, de alta frecuencia (Fig. 4.2.3). El incremento

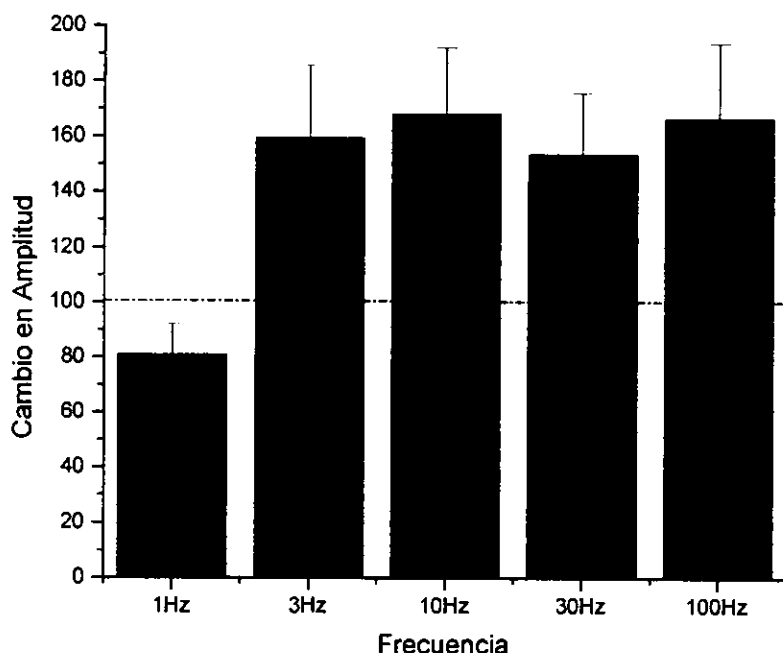


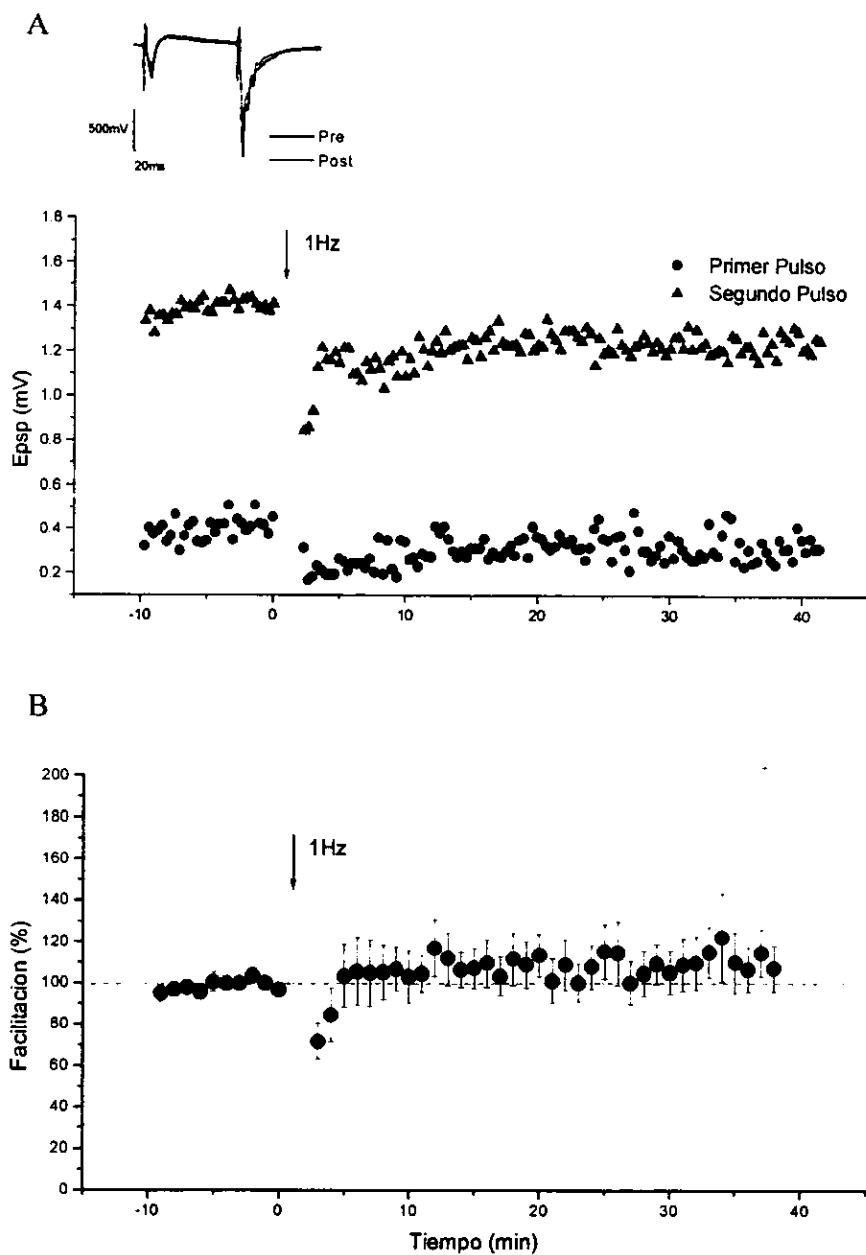
Figura 4.2.4. Cambio en la amplitud para cada frecuencia 30 minutos después de la aplicación de los seis trenes de 100 pulsos cada uno. Se muestra la comparación entre el valor promedio de los últimos cinco minutos de línea base con el promedio de los valores de la amplitud en el periodo de 30 a 35 minutos después de concluida la administración de los trenes de estimulación (para 6 registros o más por cada frecuencia). El valor de 100 en el eje de las ordenadas corresponde al valor de la línea base. En el caso de la frecuencia de 1Hz, la amplitud de la respuesta disminuyó en promedio 19% ($p=0.12$), mientras que para las frecuencias de 3Hz, 10Hz, 30Hz y 100Hz, el valor promedio de la amplitud aumentó en un 59.8% ($p=0.04$), 68.2% ($p=0.01$), 153.8% ($p=0.03$) y 66.9% ($p=0.03$) respectivamente. Las líneas indican el error estándar para cada frecuencia: 11 (1Hz), 26 (3Hz), 24 (10Hz), 53 (30Hz) y 27 (100Hz).

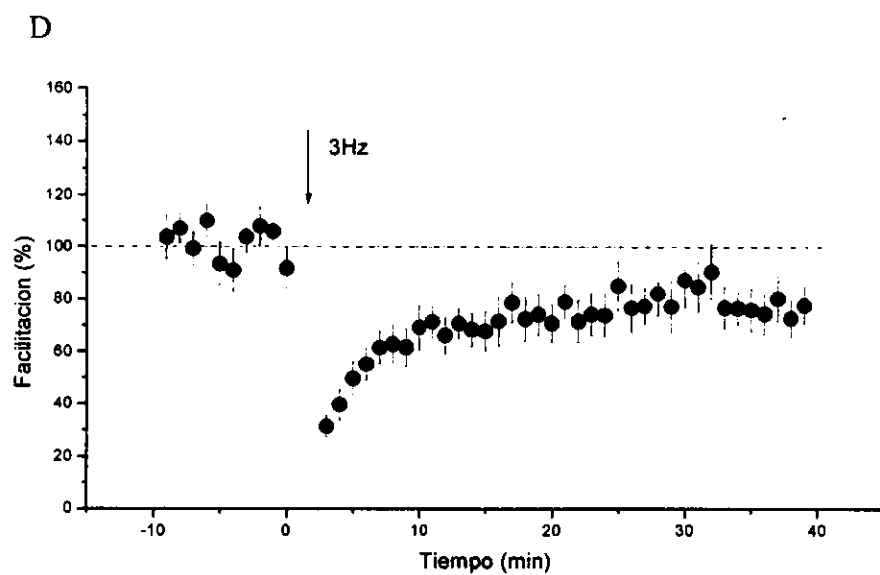
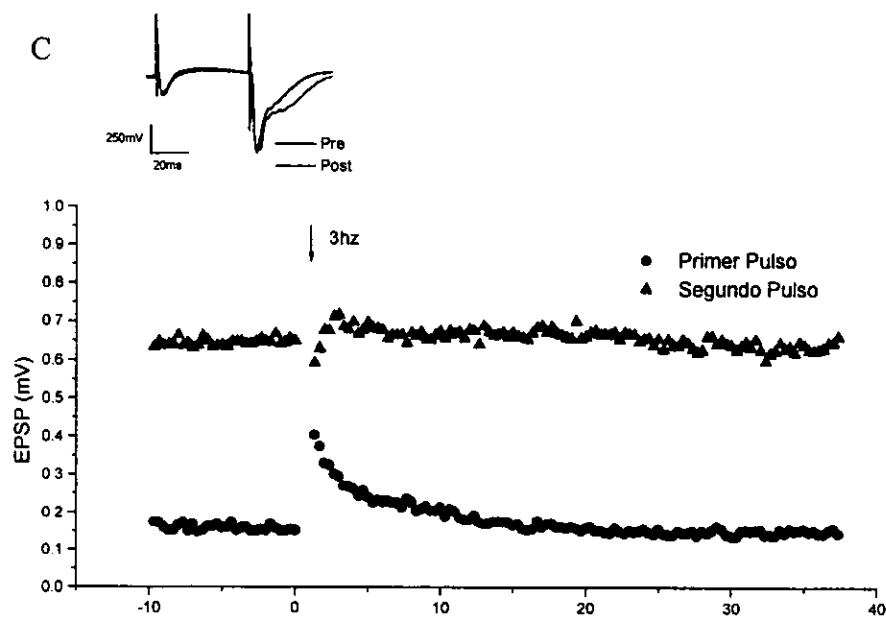
promedio, 30 minutos después de la aplicación de la estimulación, fue de un 53.8% y de 66.9% para 30 y 100hz, respectivamente (distinto de la línea base con un valor de $p < 0.05$; fig.4.2.4). En los registros en los que los trenes de estimulación fueron de baja frecuencia (1hz; fig. 4.2.2), no se observó una potenciación de la respuesta sino la depresión de la misma; 20% en promedio (aunque no es significativamente distinto de la línea base $p = 0.12$; fig. 4). La tendencia a la depresión observada también fue persistente en el tiempo. En el caso de frecuencias moderadas 3 y 10hz (fig. 4.2.3), se observó un incremento similar al encontrado en las preparaciones a las que se aplicaron altas frecuencias, 59.8% y 68.2% (respecto a la línea base $p < 0.05$; fig. 4.2.4).

A lo largo de la totalidad de los registros se observó el fenómeno de facilitación ante pares de pulsos; es decir; en los pares de pulsos que se aplicaron durante la obtención de la línea base así como en el periodo posterior a la aplicación de la estimulación tetánica, la amplitud de la respuesta ante el segundo estímulo fue mayor que la respuesta ante el primero. Durante los registros se observaron cambios en la relación de la respuesta ante el segundo pulso respecto al primero, o la magnitud de la facilitación ante el segundo estímulo. En la figura 4.2.5 se muestra el incremento en el segundo pulso respecto al primero a lo largo de los registros para cada frecuencia

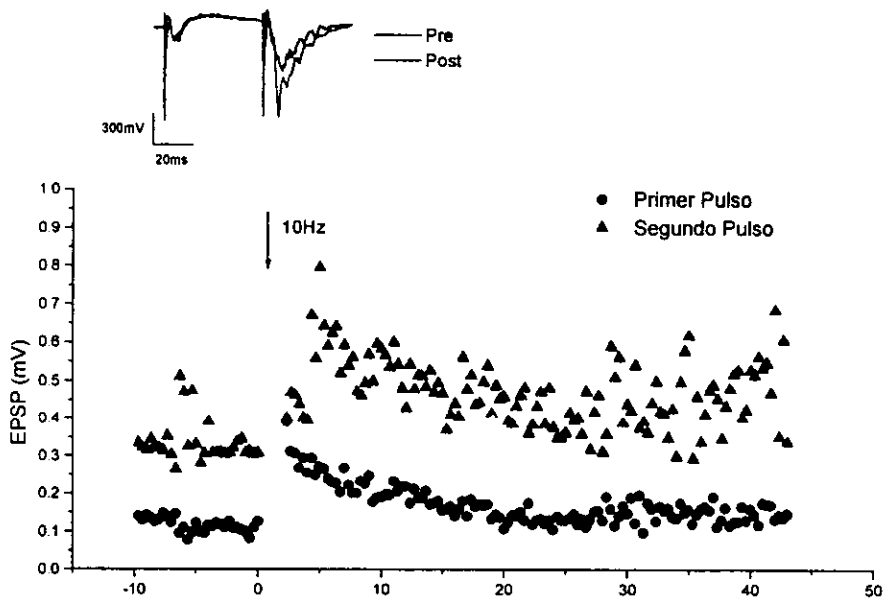
Se observó que con las frecuencias que produjeron una potenciación en la respuesta sináptica (3Hz, $p < 0.00$; 10Hz, $p = 0.13$;

Plasticidad de largo plazo en la vía córtico-talámica

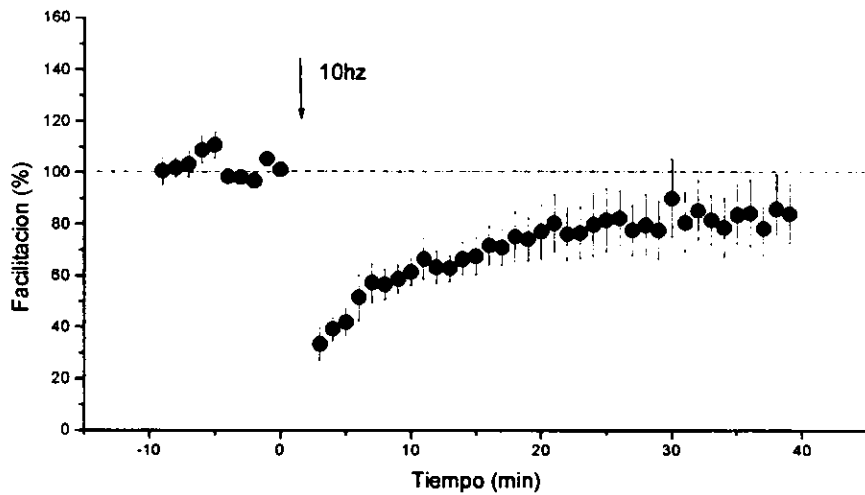




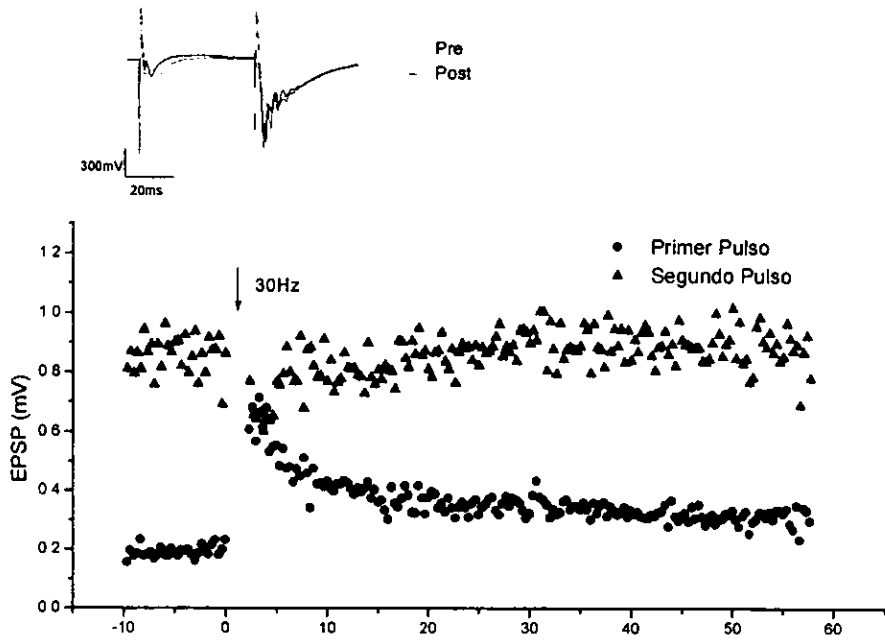
E



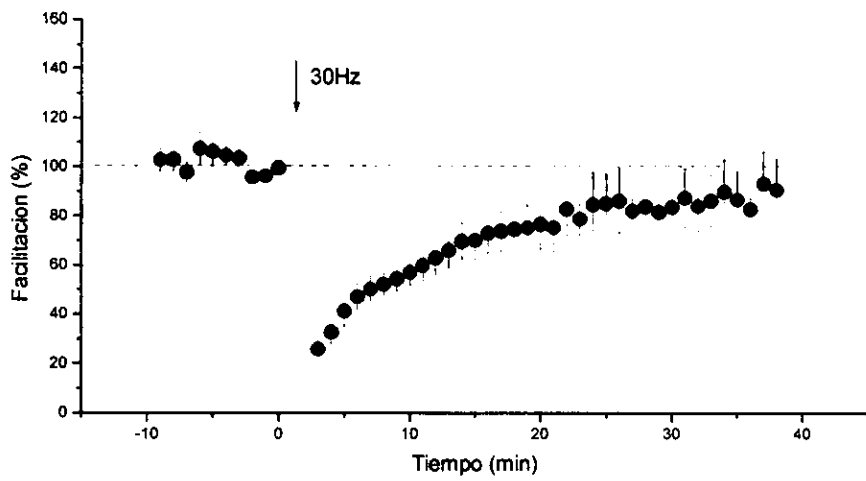
F



G



H



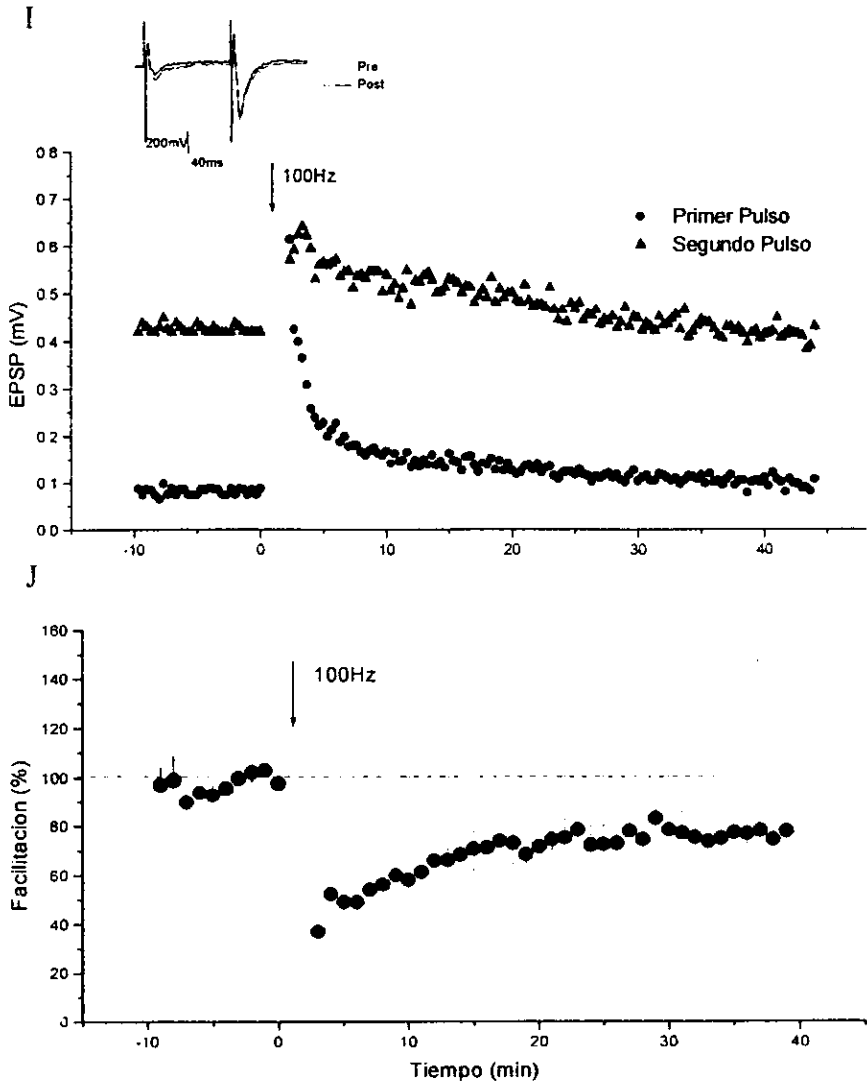


Figura 4.2.5. Cambios de corto y largo plazo en la facilitación ante pares de pulsos (PPF). A, C, E, G y I. Se muestran registros típicos en donde se aprecia la relación entre el primer y segundo pulsos de los pares aplicados durante la línea base y el periodo posterior a la aplicación a la estimulación tetánica de distintas frecuencias. B, D, F, H y J. Índice de facilitación promedio por minuto a través del tiempo para 6 o más registros por cada frecuencia. El valor promedio de facilitación durante los últimos cinco minutos en cada registro se consideró 100%, y a partir de este valor se compararon los valores de facilitación de la totalidad del registro. Las barras muestran los valores de error estándar.

30Hz, $p=0.34$; 100Hz, $p<0.00$) la facilitación, medida treinta minutos después de la estimulación tetánica, disminuyó en un 20%.

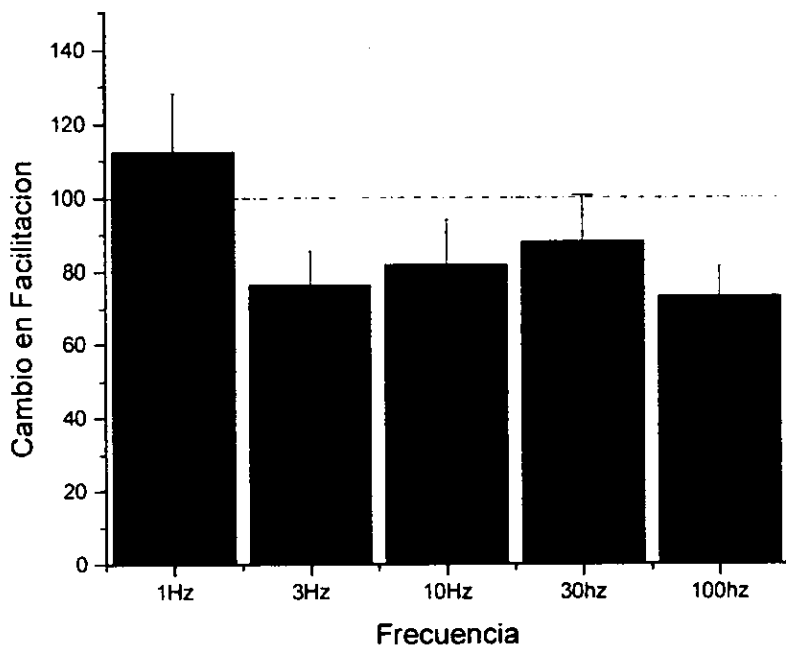


Figura 4.2.6. Promedio de cambios de largo plazo en la facilitación ante pares de pulsos (PPF). Se muestra la variación promedio, de 6 o más registros por frecuencia, en la amplitud del segundo pulso respecto al primero antes y 30 minutos después de la aplicación de trenes de pulsos para cada frecuencia. El valor de 100 en el eje de las ordenadas corresponde al valor de la facilitación durante los últimos cinco minutos de la línea base con el que se compara el valor promedio de 30 a 35 minutos después de la aplicación de pulsos. Para la frecuencia de 1Hz la PPF aumento en un 12.4% ($p=0.33$ respecto a línea base) mientras que para demás frecuencias la facilitación disminuyó en un 23.5% para 3Hz ($p<0.00$), 18.0% para 10Hz ($p=0.13$), 11.9% para 30Hz ($p=0.34$) y 26.7 para los 100Hz ($p<0.00$). Se muestra el error estándar en la parte superior de las barras siendo de 15, 9, 12, 12 y 8 para cada frecuencia en orden ascendente.

Para la frecuencia de 1Hz, el resultado fue el contrario, treinta minutos después se encontró un incremento de 10% en la facilitación del segundo pulso respecto a la línea base, no estadísticamente significativo ($p=0.33$). En la figura 4.2.6 se puede observar que la relación entre la frecuencia utilizada y el cambio en la facilitación ante el segundo pulso depende de la frecuencia que se utilice.

Respecto a los cambios de corto plazo, en la mayoría de los registros se observó un aumento en promedio de 300% respecto al valor de línea base, inmediatamente después de la aplicación de la estimulación tetánica, este incremento cayó a un valor más cercano a la línea base en los siguientes 5 minutos de registro (figuras 4.2.2 y 4.2.3). Resultados similares se encontraron para todas las frecuencias, y puede apreciarse aun en las gráficas promediadas de la totalidad de los registros para cada frecuencia, sin embargo, esta modificación de corto plazo fue encontrada consistentemente en frecuencias desde 3Hz o superiores ($p<0.05$ respecto a línea base) mientras que en los registros en donde se aplicaron trenes de pulsos con una frecuencia de 1Hz el fenómeno se encontró sólo en algunos registros siendo no estadísticamente significativo para el promedio en los registros ($p=0.79$).

El porcentaje de aumento respecto a la línea base dentro de estos dos primeros minutos, posteriores a los trenes de estimulación, es dependiente de la frecuencia aplicada, siendo mayor para frecuencias altas que para frecuencias la frecuencia de 1Hz, en la figura 4.2.7 se muestran el porcentaje de aumento

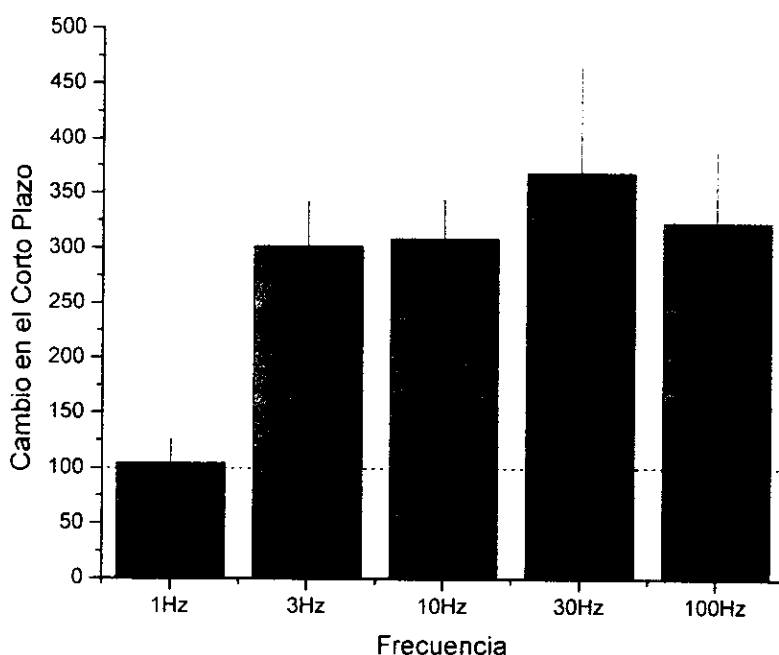


Figura 4.2.7. Potenciación postetánica. Se muestra el cambio promedio para 6 registros o más por cada frecuencia, en la amplitud de los potenciales evocados registrados en los primeros dos minutos posteriores a la conclusión de los trenes de pulsos aplicados a las preparaciones respecto a los valores colectados en los últimos cinco minutos de la línea base. En el caso de la frecuencia de 1Hz se observó un aumento del un 5.5% ($p=0.79$), 202.2% para 3Hz ($p<0.000$), 210% para 10Hz ($p<0.000$), 270.1% para 30Hz ($p=0.013$) y 225.3% para 100% ($p=0.003$). Los valores del error estándar fueron de 20, 40, 34, 95 y 63 para las distintas frecuencias consideradas de menor a mayor.

respecto a la línea base durante los dos primeros minutos posteriores a la activación tetánica.

Conclusiones

El uso de cortes inclinados como se describió en la sección de procedimiento (Connors, 1991), permitió preservar las fibras que conectan a la corteza con el tálamo, haciendo posible la detección de una señal sináptica en las células talámicas ante la estimulación de las fibras corticales. El uso de cortes específicos, basados en los datos anatómicos disponibles en la literatura acerca de las conexiones entre las distintas estructuras nerviosas, como en este caso, incrementa en gran medida las posibilidades de estudio de la comunicación sináptica del sistema nervioso con la técnica de registro en secciones, haciendo posible la caracterización del comportamiento sináptico en vías no accesibles con el uso de los cortes tradicionales.

Los resultados de los registros realizados muestran que la eficiencia de la comunicación sináptica en las vías córtico-talámicas es sensible a la aplicación de estimulación tetánica. El tratamiento de estimulación repetida resultó en cambios de corto y largo plazo en la respuesta sináptica registrada, siendo dependientes de la frecuencia de la activación. Es de destacar que la actividad inhibitoria, naturalmente presente en el sistema tálamo-cortical, no impidió el establecimiento de cambios plásticos en la vía estudiada, como se puede apreciar en la similitud de los

registros en presencia de bloqueadores de los receptores GABA y los realizados en ausencia de este bloqueo.

En el corto plazo se observó un incremento en todas las frecuencias potenciadoras de hasta un 200% respecto al valor de la línea base y en algunos casos en los que se administró una baja frecuencia (1Hz), la ocurrencia o no de esta potenciación así como su magnitud, son dependientes de la frecuencia que se utilice.

Los cambios de largo plazo observados en los registros fueron de dos tipos, la aplicación de estimulación de altas frecuencias (30 y 100Hz) dio lugar a un incremento en la respuesta sináptica, mientras que el uso de baja frecuencia como la de 1Hz, provocó la depresión de la transmisión sináptica. Lo anterior demuestra que el cambio en la respuesta sináptica es dependiente de la frecuencia que se emplee.

Las variaciones observadas en la facilitación de la respuesta ante el segundo pulso de los pares aplicados durante el registro de la línea base y el periodo de 35 minutos tras la aplicación de la estimulación tetánica de 3Hz o superior, muestran una disminución en los valores de facilitación tras la aplicación de los trenes de estimulación, lo que sugiere que al menos en parte los cambios de largo plazo observados en los registros son mediados por mecanismos moleculares que tienen lugar en los sitios presinápticos.

Esta disminución en la facilitación no se observó con el uso de una frecuencia baja (1Hz), en donde se encontró un aumento de

20%; esto sugiere que mecanismos moleculares distintos podrían subyacer a los dos tipos de plasticidad de largo plazo encontrados en el rango de frecuencias utilizados durante los registros.

El hecho de que frecuencias moderadas (3 y 10Hz), dieran lugar a una potenciación del potencial evocado similar al causado por altas frecuencias, contrasta con los resultados reportados para la vía colateral de Schaffer en la región hipocampal, en donde la dependencia de los cambios a largo plazo respecto a la frecuencia utilizada se han estudiado ampliamente. Esta diferencia podría deberse a diferencias en las características sinápticas de las dos vías y su manera de responder ante frecuencias de estimulación diferente. Sin embargo, también podría explicarse por diferencias en los protocolos experimentales utilizados en los datos aquí reportados respecto a los utilizados para la obtención de la curva de dependencia de la frecuencia en el hipocampo. Para diferenciar estas dos posibilidades se realizaron registros simultáneos en las dos vías.

Experimento 2

Sujetos

Procedimiento

Registro

Comparación con la vía hipocampal

Los resultados del experimento previo, mostraron que es posible inducir cambios de largo plazo en la eficiencia sináptica en las vías córtico-talámicas, y que estos cambios pueden ser una potenciación o bien la depresión de la misma, dependiendo de la frecuencia administrada. Sin embargo, la relación entre la frecuencia utilizada y el cambio observado en la eficiencia sináptica difiere con los resultados previamente reportados para la vía hipocampal colateral de Schaffer (Duddek and Bear, 1992; Malenka and Nicoll, 1993); la vía en la que los fenómenos de plasticidad sináptica han sido más ampliamente estudiados.

Con el fin de investigar si las diferencias encontradas se debían a las características particulares del equipo o del protocolo experimental utilizado o, a diferencias en la respuesta de estas vías ante frecuencias similares, se llevaron a cabo registros simultáneos. En estos registros se colocaron electrodos en la región de CA1 en el hipocampo además de los electrodos en las vías córtico-talámicas.

En ambas vías se siguió el protocolo experimental utilizado en los experimentos anteriores.

SUJETOS



Para este experimento se utilizaron 14 ratones de la línea Balb-c, de características similares a las de los sujetos utilizados en el experimento anterior. Las circunstancias anteriores a la obtención de las preparaciones también se mantuvieron similares.

PROCEDIMIENTO

La técnica utilizada en este experimento fue similar a la del experimento anterior. La manera de obtención de las secciones no varió ya que en ellas además de las vías córtico-talámicas están presentes las estructuras hipocampales. Las soluciones y las condiciones de los tejidos se mantuvieron bajo los mismos parámetros. Las variaciones introducidas se limitaron a los procedimientos de registro y tuvieron como única finalidad la de permitir la estimulación y el registro de las señales con dos pares de electrodos en una misma preparación de forma simultánea.

Para el registro en la zona hipocampal se utilizó un segundo par de electrodos que se encontraban montados en micro manipuladores similares a los utilizados para el primer par. El electrodo de registro, se encontraba también haciendo contacto con

un headstage a través del cual se transmitía la señal colectada en la preparación para ser colectada en el ordenador. El electrodo de estimulación fue conectado a una segunda caja de aislamiento que a su vez era activada a través del canal #5 del sistema Master 8.

Los programas del sistema Master 8 fueron modificados para que la estimulación que antes se limitaba a la activación del canal #4 se extendiera al canal #5 que activaría el segundo electrodo de estimulación; para los tres programas utilizados se copiaron los mismos parámetros del canal 4 al 5. Para el caso de los programas “5” y “3” solo se añadió la activación del canal 5 al activarse el 4, de tal modo que la activación de ambos canales se realizara simultáneamente. El “programa 2” usado para el registro de línea base y registro posterior a la estimulación tetánica recibió un trato distinto.

Como solo se contaba con un amplificador, en los registros donde se utilizaron dos electrodos de estimulación, no era posible amplificar y registrar las respuestas provenientes de ambos electrodos de forma simultánea. Por este motivo, cuando se aplicaban los trenes de 600 pulsos de forma simultánea en la preparación a través de los dos electrodos de estimulación, sólo la señal proveniente del primer electrodo era colectada.

Se introdujo una modificación, en el caso del “programa 2”, similar a la de los otros dos programas, para permitir la activación del canal 5 además del canal 4. La activación del canal 4 que se

traducía en el envío de los pares de pulsos a través de los dos electrodos, activaba además un relay conectado al canal 7 de Master 8. El relay funcionaba como un switch, cambiando el acceso al amplificador, 5s después de la recepción de la señal mediante la activación del canal 4, de la señal del primer electrodo de registro por la del segundo durante un periodo de 10s. Se incluyó además la activación del canal 3 ante la activación del canal 4; los parámetros del canal 3 tenían la función de bloquear la liberación de pulsos a través del canal 4, ante la activación del canal 1, y permitirle a través del canal 5. De este modo, después de aplicar el primer par de pulsos a través del primer electrodo de estimulación, se enviaba otro par tras a través del segundo electrodo de estimulación, 10s después, logrando así que las señales provenientes de los electrodos de registro se fuesen alternando para ser colectadas en el ordenador.

Para el registro de estas dos señales en la computadora, se realizó otro programa, a través de Brain Wave, que permitiera diferenciar las dos señales que llegaban de los dos electrodos de registro a través de una misma vía. Este programa, una extensión del previamente utilizado, contaba con un menú similar al descrito en la sección correspondiente para el experimento anterior. Las segunda y tercera opciones, utilizadas durante la liberación de los trenes de 600 pulsos a distintas frecuencias, se mantuvieron con las mismas instrucciones que el en experimento anterior y fueron

utilizadas con los programas modificados 5 y 3 de Master 8. Lo anterior resultaba en que se aplicaran las series de pulsos de forma simultánea a través de los dos electrodos de estimulación, pero solo se registraban en el ordenador las respuestas provenientes del primer electrodo de registro.

La primera opción del menú, que se utilizó para el registro de la línea base, así como para el registro durante los minutos posteriores a la aplicación de los trenes de 600 pulsos, fue modificada para enviar la señal para activar a Master 8 cada 10s en lugar de cada veinte, al tiempo que registraba la señal del electrodo de registro que tuviese acceso en ese momento al amplificador. Con las nuevas características del programa 2, la recepción de la señal con intervalos de 10s, resultaba en la estimulación alternada de las dos vías, manteniéndose así el intervalo de 20s en cada una de las dos. Además se incluyeron las instrucciones necesarias para que se diferenciase en el archivo producido cuáles señales provenían del primer electrodo de registro y cuáles del segundo.

Dadas las diferencias en la cantidad de información obtenida proveniente de cada par de electrodos y el método para diferenciar las señales producidas en ambos, en todos los registros, el primer par de electrodos se colocó en las vías córtico-talámicas permitiendo el registro de las respuestas sinápticas durante la estimulación tetánica, mientras que el segundo par se utilizó para el registro en las vías hipocampales.

Registro

Para la realización de registros simultáneos en las vías córtico-talámicas y en la de colateral de Schaffer en el hipocampo, el procedimiento fue similar al utilizado en los registros anteriores. En este caso además se colocaron electrodos en la región hipocampal; un electrodo de estimulación sobre los axones pertenecientes a las células piramidales de la región de CA3, que hacen conexiones sinápticas en la región de CA1; y, un electrodo de registro colocado en donde estas conexiones ocurren.

El protocolo experimental para cada registro fue similar al del experimento anterior y se aplica a ambas vías en las que se realizaron los registros con el fin de que los resultados fuesen comparables. A una línea base de 10min, durante la cual un par de pulsos se aplicaba cada 20s en cada vía, le seguía la aplicación de un tren de 600 pulsos tras lo que las condiciones de la línea base se restablecían, manteniéndose durante al menos 50min. Sin embargo la intensidad de la corriente aplicada en la vía colateral de Schaffer fue distinta a la administrada en la córtico-talámica, situándose entre los 0.04mA y 0.09mA, esto debido en parte a que en esta vía los axones están agrupados de forma más compacta y la distancia entre el electrodo de estimulación y de registro es menor (figura 5.1.1).

El análisis de los datos obtenidos mediante el procedimiento utilizado para el análisis de los registros del primer experimento; se comenzó con la separación de las trazas intercaladas de los

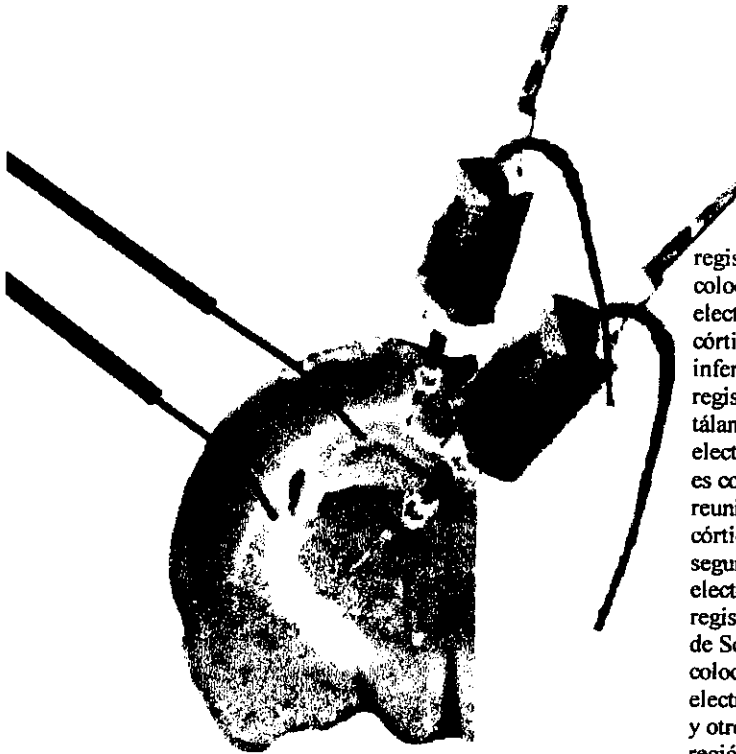


Figura 5.1.1.
Posición de los
electrodos en la
sección. Para el
registro simultáneo se
colocó un primer par de
electrodos en la vía
córtico-talámica (par
inferior), el electrodo de
registro se coloca en el
tálamo ventrobasal y el
electrodo de estimulación
es colocado en el lugar de
reunión de las fibras
córtico-talámicas. Un
segundo par de
electrodos se utilizó en el
registro en la vía colateral
de Schaffer mediante la
colocación de un
electrodo de estimulación
y otro de registro en la
región de CA1 (par
superior).

archivos iniciales; se crearon archivos separados para la línea base y el intervalo posterior al tren de pulsos para cada una de las dos vías. Mediante el programa diseñado a través de Brain Wave se procedió a medir la amplitud de la respuesta en cada traza para el primer y segundo pulso de cada par aplicado cada 20s. Los análisis posteriores se realizaron a partir de los archivos conteniendo los valores de amplitud de los potenciales evocados.

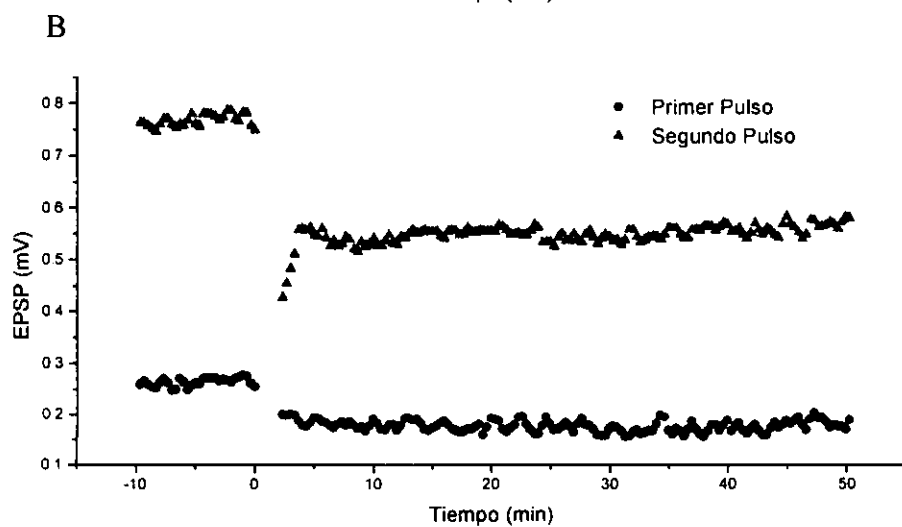
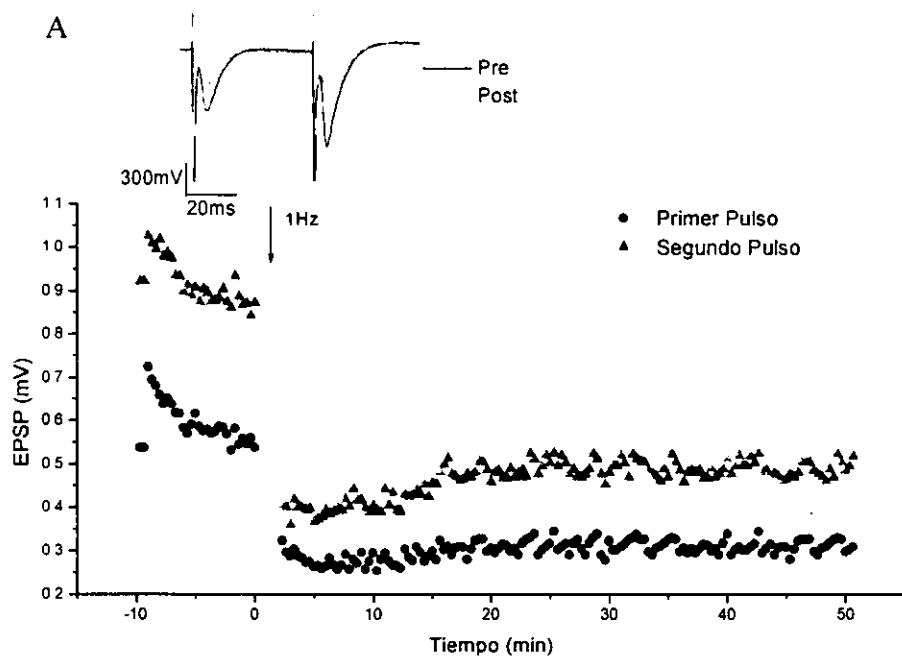
Para calcular el cambio en la respuesta luego de la aplicación del tren de pulsos, se obtuvo el promedio de la amplitud de las respuestas registradas durante los últimos cinco minutos de

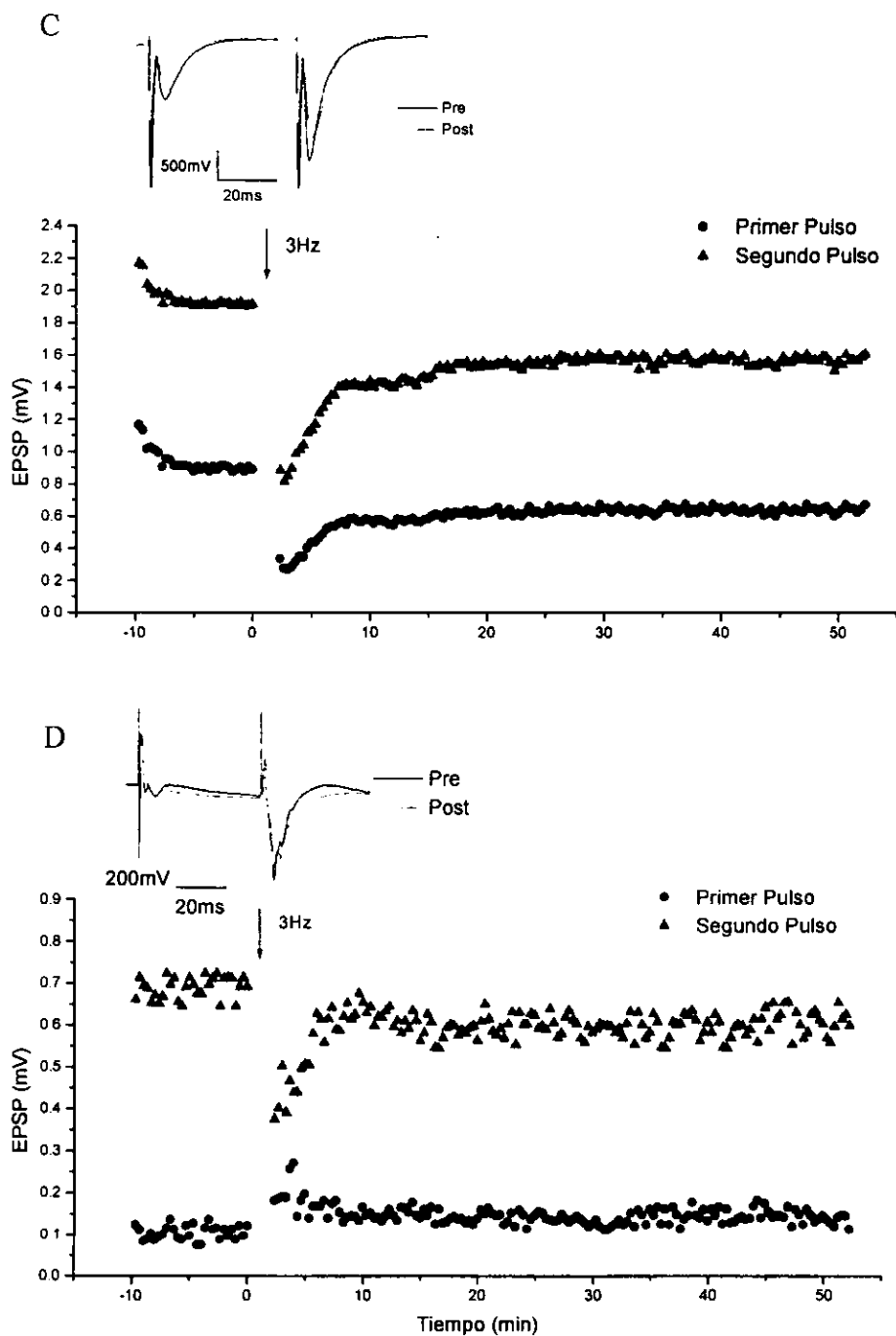
la línea base y un periodo similar 30 min después de la terminación de la aplicación de la estimulación tetánica. Estos dos valores se comparaban tomando el promedio de la amplitud de respuesta durante la línea base como 100%.

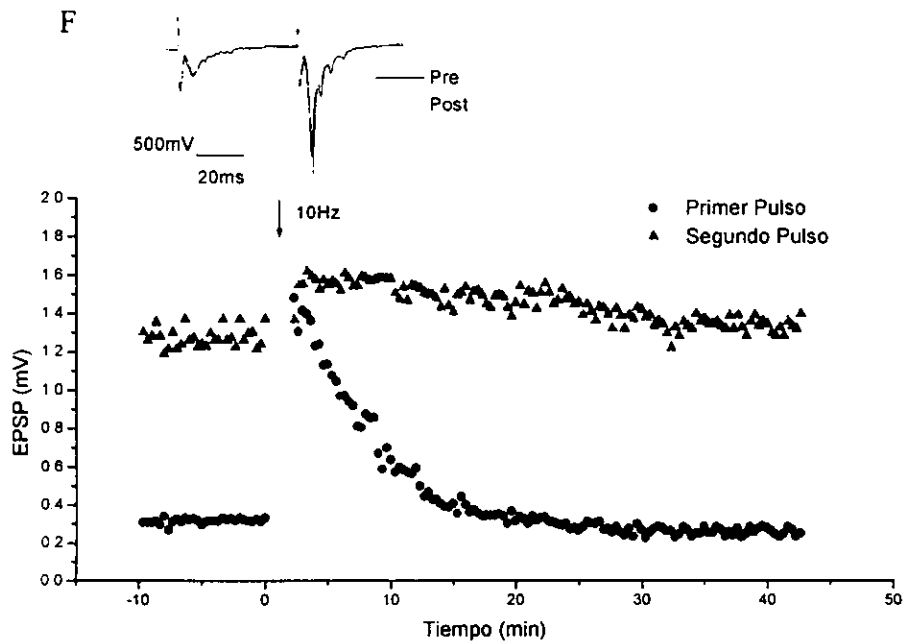
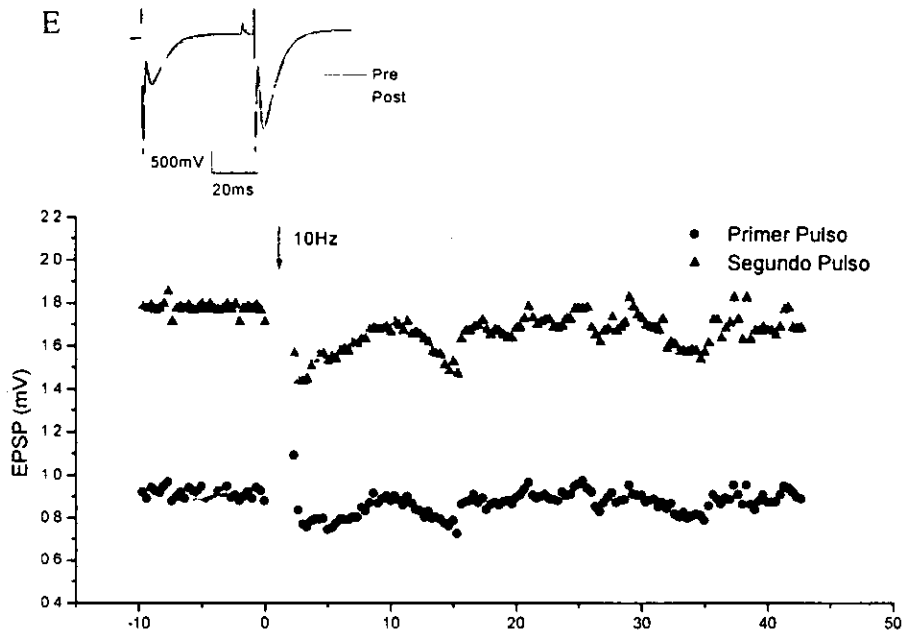
Un procedimiento similar se utilizó para determinar el porcentaje del aumento en la respuesta inmediatamente después de la aplicación de la estimulación tetánica, en este caso, el valor de la línea base fue comparado contra el promedio de la amplitud de las respuestas durante los dos primeros minutos después de que concluyese la estimulación mediante los trenes de pulsos aplicados.

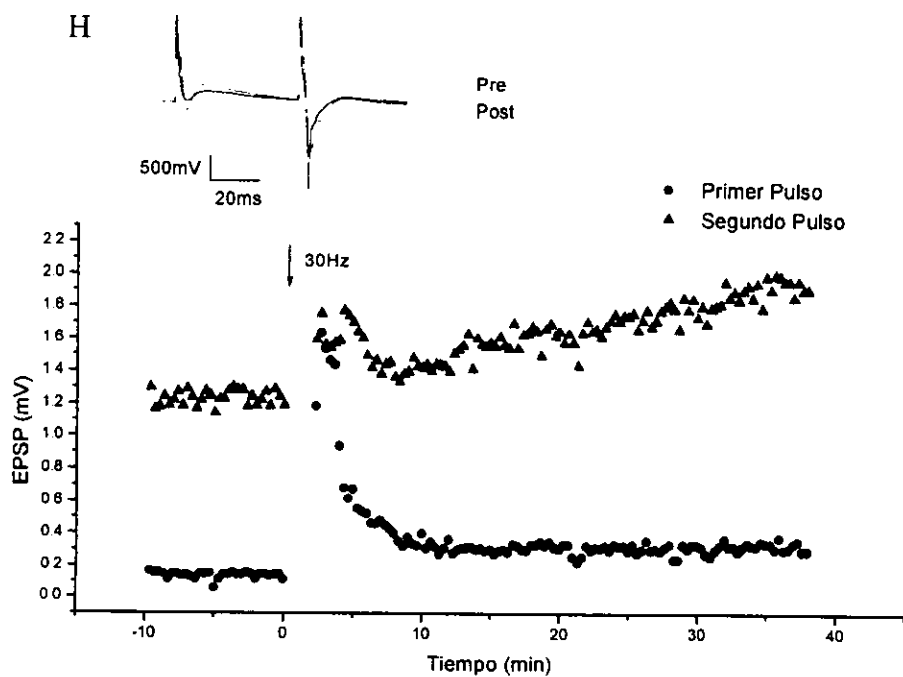
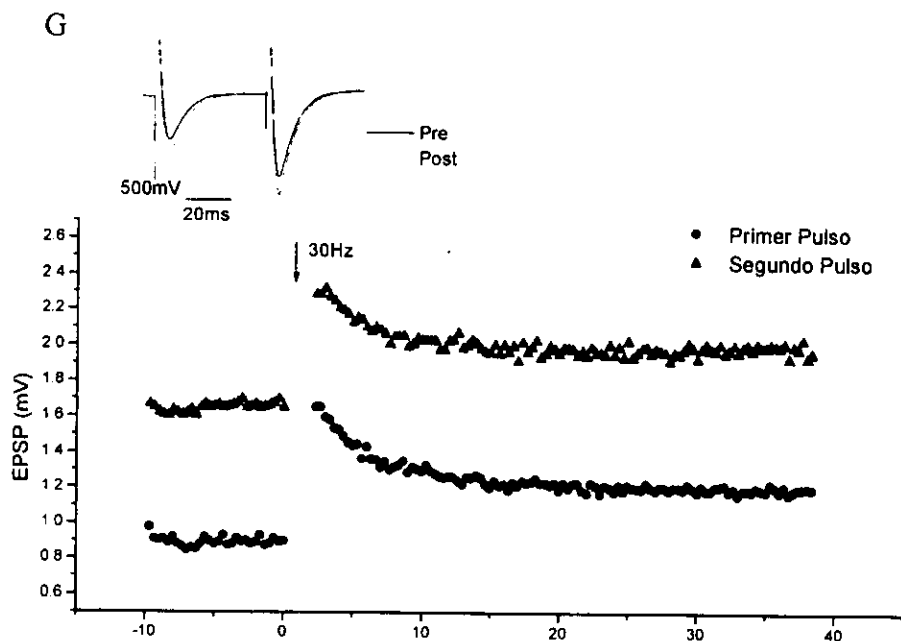
Para calcular el cambio en la relación entre el primer y segundo pulso de los pares aplicados a lo largo del registro, se obtuvo el promedio de la amplitud de las respuestas para el segundo pulso de cada par, durante el mismo periodo que el promedio anteriormente obtenido para el primero. El promedio del primer pulso se consideró como 100% y contra este valor se comparó el promedio del segundo pulso. Lo mismo se realizó para el obtener el valor del cambio 30 min después, en este caso tomando como 100% el valor promedio para primer pulso durante este periodo. Finalmente, el valor del cambio del primer pulso respecto al primero durante la línea base se consideró como 100% y contra este valor se comparó el valor de esta misma relación 30min después. De esta manera se obtuvo un índice de la modificación de la relación entre los pares de pulsos antes y después de la aplicación de la estimulación.

Resultados









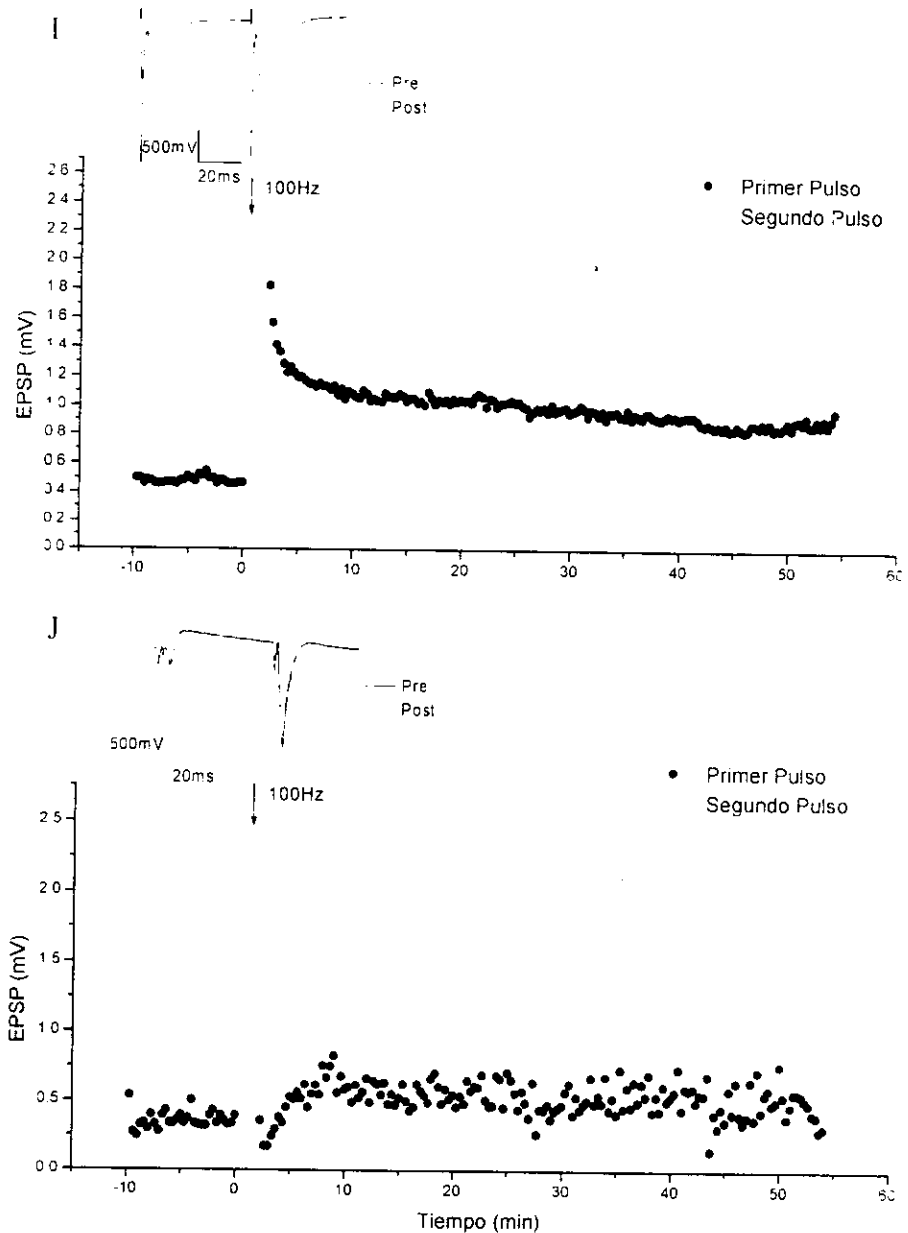
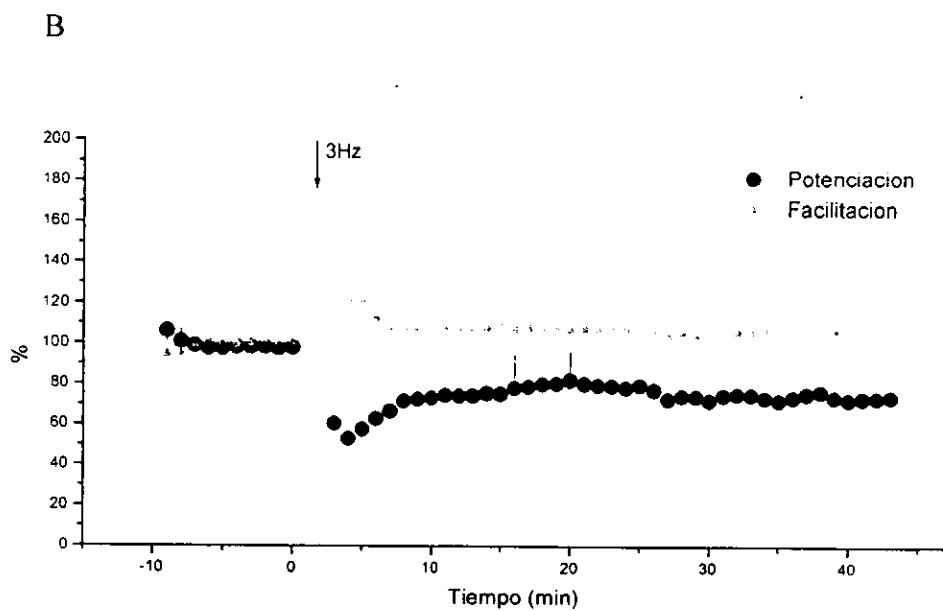
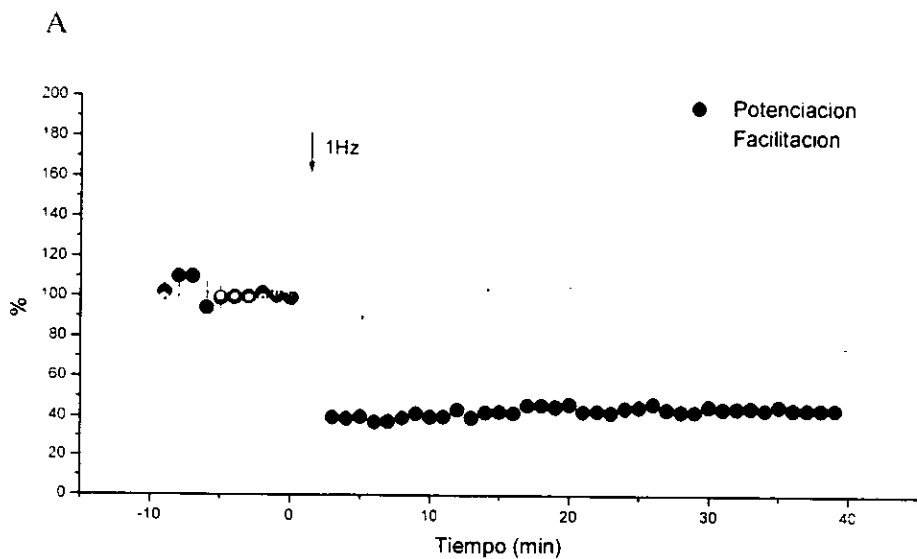
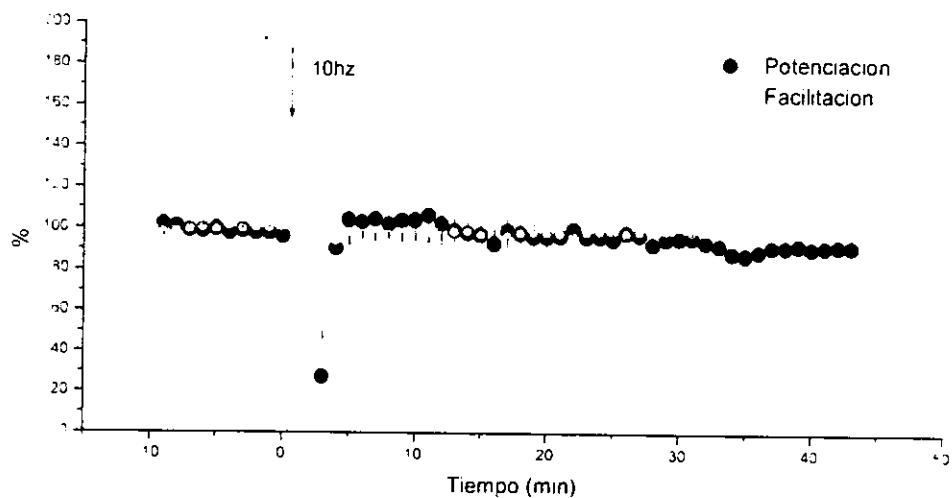


Figura 5.2.1. Registros típicos realizados simultáneamente en las vías córtico-talámica (B, D, F, H y J) y colateral de Schaffer (A, C, E, G e I) para distintas frecuencias (1Hz, 3Hz, 10Hz, 30Hz y 100Hz). En la parte superior se muestran trazas promedio obtenidas durante la línea base y después de la aplicación de estimulación tetánica.

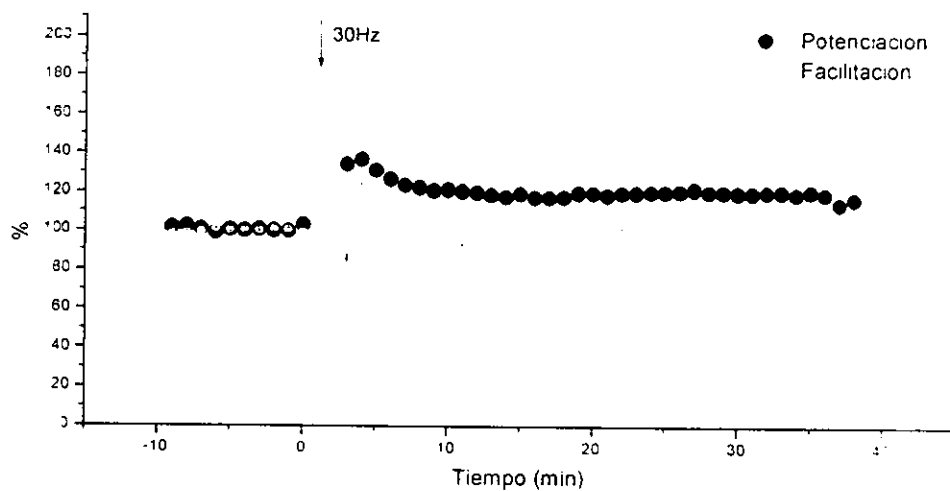
Plasticidad de largo plazo en la vía córtico-talámica



C



D



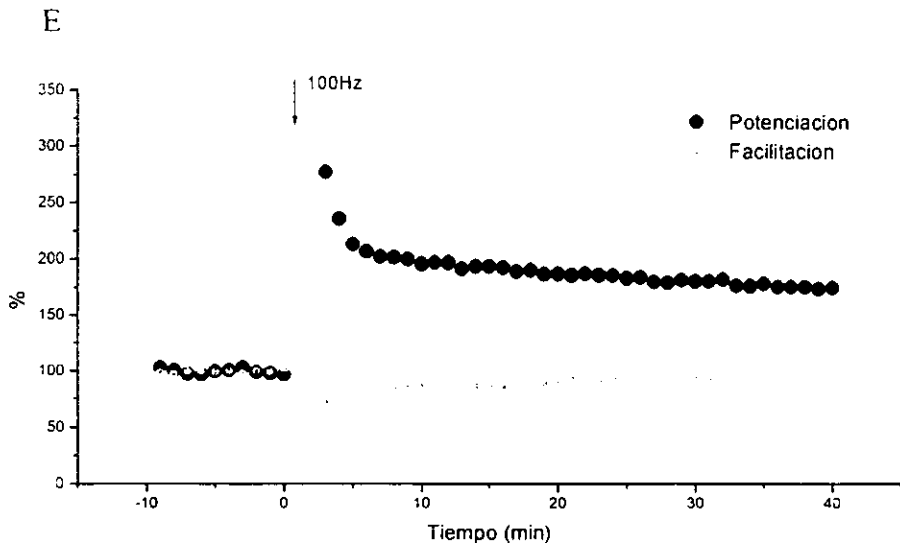


Figura 5.2.2. Cambios a largo plazo y facilitación promedio en CA1 en el hipocampo para las distintas frecuencias utilizadas (A, 1Hz; B, 3Hz; C, 10Hz; D, 30Hz; E, 100Hz). En cada gráfica se muestra el promedio de dos experimentos.

Los resultados de los registros realizados simultáneamente en las vías córtico-talámicas y la vía colateral de Schaffer en el hipocampo, mostraron diferencias en la respuesta ante la estimulación repetida; tanto en las modificaciones de corto como en las de largo plazo. En la figura 5.2.1 se muestran las respuestas de las dos vías durante el registro simultáneo para cada una de las frecuencias utilizadas.

Respecto a las modificaciones en la amplitud de la respuesta en el largo plazo, se observaron discrepancias dependientes de la frecuencia utilizada en las dos vías registradas (figura 5.2.1). En la vía hipocampal, ante frecuencias bajas, como 1 y 3Hz, se presentó

una depresión en la respuesta sináptica del 55.8% y 26.4% con un error estándar (se) de 11.3 y 6.2 respectivamente y un valor respecto a línea base $p < 0.05$, que se mantuvo durante la duración de los registros; en tanto, para frecuencias altas, 30 y 100Hz, ocurrió un incremento persistente en la amplitud de la respuesta, siendo este más pronunciado para la segunda frecuencia: 20.1% (se: 10.1, $p=0.38$) en el primero y 76% (se: 18.2, $p=0.05$) para el

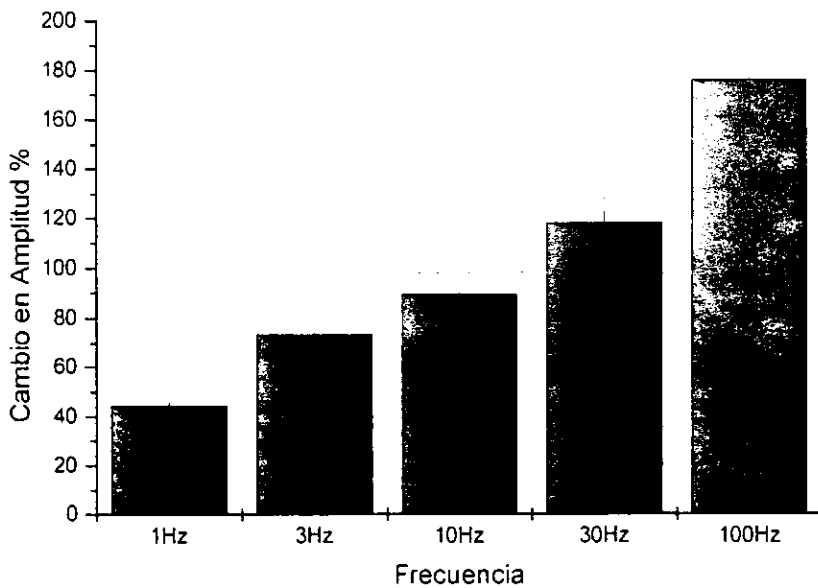


Figura 5.2.3. Cambios a largo plazo en la vía Colateral de Schaffer en el hipocampo. Cambio en la amplitud para cada frecuencia 30 minutos después de la aplicación de los seis trenes de 100 pulsos cada uno. Se muestra la comparación entre el valor promedio de los últimos cinco minutos de línea base con el promedio de los valores de la amplitud en el periodo de 30 a 35 minutos después de concluida la administración de los trenes de estimulación. El valor de 100 en el eje de las ordenadas corresponde al valor de la línea base.

segundo. En el caso de la frecuencia de 10Hz, los valores de amplitud se mantuvieron cercanos a los obtenidos durante la línea base con 10.4% (se: 1.8, $p=0.02$) respecto a la línea base (figura 5.2.2 y 5.2.3).

La relación entre el primer y el segundo pulso utilizados durante la línea base y el periodo posterior a la estimulación

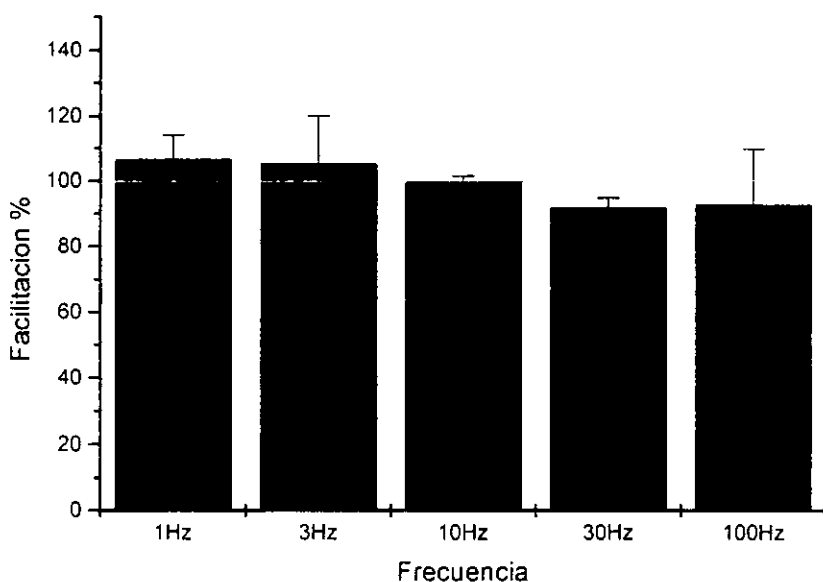


Figura 5.2.4. Cambios a largo plazo en la facilitación por pares de pulso en la vía Colateral de Schaffer en el hipocampo. Se muestra la variación promedio en la amplitud del segundo pulso respecto al primero antes y 30 minutos después de la aplicación de trenes de pulsos para cada frecuencia. El valor de 100 en el eje de las ordenadas corresponde al valor de la facilitación durante los últimos cinco minutos de la línea base con el que se compara el valor promedio de 30 a 35 minutos después de la aplicación de pulsos.

tetánica no fue modificada de forma sustancial, independientemente de los cambios obtenidos en la amplitud de la

respuesta, en el largo plazo, después de la estimulación repetida que ocurrió con algunas de las frecuencias. La desviación respecto al 100% de la línea base fue inferior al 10% y sin diferencias significativas respecto a la línea base ($p=0.43, 0.64, 0.87, 0.10, 0.54$ para cada frecuencia en orden ascendente) para la totalidad de las frecuencias (figuras 5.2.1, 5.2.2 y 5.2.4).

En el corto plazo (figuras 5.2.1, 5.2.2 y 5.2.5), se

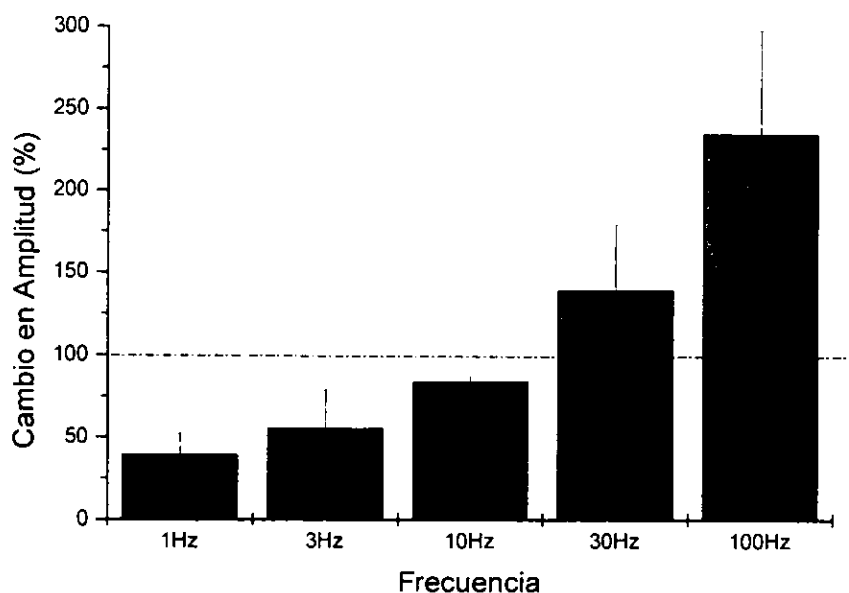


Figura 5.2.5. Potenciación postetánica en la amplitud de la respuesta en la vía Colateral de Schaffer en el hipocampo. Se muestra el cambio promedio en la amplitud de los potenciales evocados registrados en los primeros dos minutos posteriores a la conclusión de los trenes de pulsos aplicados a las preparaciones respecto a los valores colectados en los últimos cinco minutos de la línea base.

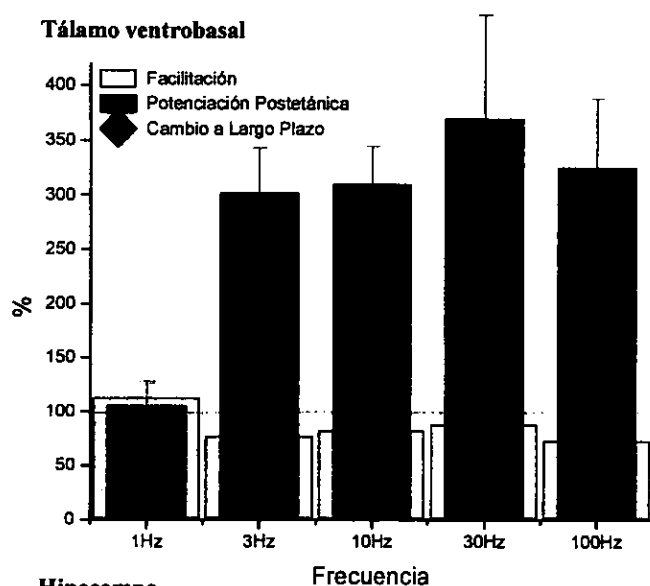
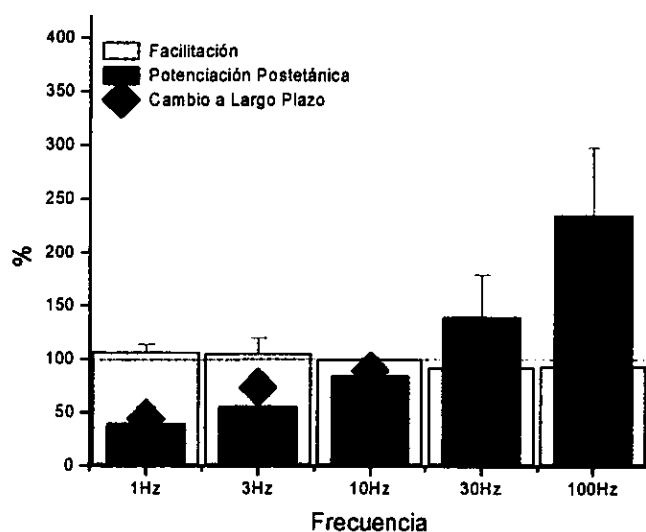
A. Tálamo ventrobasal

B. Hipocampo


Figura 5.2.6. Características de los cambios plásticos en las vías córtico-talámicas (A), y la vía colateral de Schaffer. En las gráficas se muestran los promedios de los cambios de corto (barras azules), y largo plazo (rombos) en la amplitud de la respuesta sináptica ante la aplicación de distintas frecuencias de estimulación (1Hz, 3Hz, 10Hz, 30Hz y 100Hz) respecto a los valores de línea base. Además se muestra el cambio en la facilitación ante pares de pulsos 30min después de la aplicación de estimulación tetánica (barras grises).

encontraron modificaciones en la respuesta sináptica, dependientes de la frecuencia administrada; estas variaciones concuerdan con la dirección de los cambios plásticos medidos en el largo plazo pero presentan una mayor magnitud. Se observaron incrementos en la amplitud durante los dos minutos siguientes a la administración de

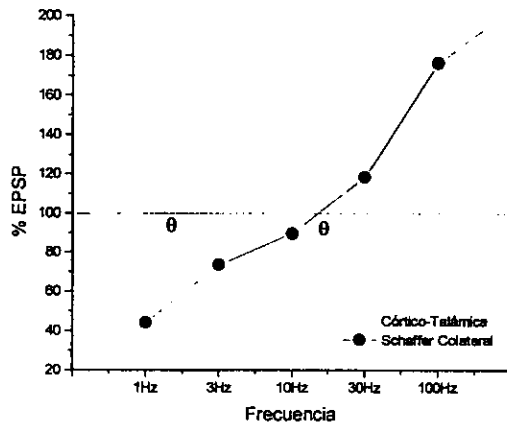


Figura 5.2.7. Comparación de los cambios a largo plazo en la respuesta sináptica (LTP, LTD) de las vías córtico-talámicas (cuadros) y la vía colateral de Schaffer (círculos). Se muestra la relación entre los cambios en la amplitud de la respuesta y la frecuencia utilizada. Las letras θ muestran el valor de la frecuencia en la que se espera no observar ningún cambio en la amplitud de la respuesta.

trenes de estimulación para las dos frecuencias más altas, con aumentos de 39.7% y de 135% para 30 y 100Hz aunque no significativos respecto a la línea base ($p=0.52$ y $p=0.16$ respectivamente). La aplicación de estimulación de baja frecuencia, (1 y 3Hz) fue seguida de una depresión de la respuesta en los primeros 2 minutos (de 60.7%, $p=0.04$ y 45.5% $p=0.19$

respectivamente) y una recuperación parcial en el periodo posterior. La frecuencia de 10Hz provocó una depresión de un 16.6% ($p=0.04$) en la respuesta que después regresó a los niveles basales.

Los resultados promedio de los cambios de corto y largo plazo las vías córtico-talámicas se presentan de forma conjunta con los resultados obtenidos en el experimento anterior. Es posible apreciar las diferencias de las vías córtico-talámicas respecto a la vía hipocampal, en los registros que se muestran en la figura 5.2.1 y en la figura 5.2.6. se resumen los cambios plásticos de corto y largo plazo de ambas vías ante la estimulación de distintas frecuencias. En la figura 5.2.7 se comparan los cambios de largo plazo (LTP, LTD) encontrados en las dos vías estudiadas.

Conclusiones

Los resultados muestran que los cambios plásticos en la vía colateral de Schaffer son semejantes a los reportados anteriormente (Bliss y Collindridge, 1993; Dudek y Bear, 1992; Malenka y Nicoll, 1993). Las dos vías estudiadas, colateral de Schaffer y córtico-talámica, difieren en las respuestas plásticas ante la aplicación de estimulación de alta frecuencia. La realización de registros simultáneos fue una adecuada aproximación metodológica ya que crea condiciones semejantes, para las dos vías de estudio, permitiendo la realización de estudios comparativos.

Los registros simultáneos realizados en el hipocampo y el tálamo muestran que ambas vías nerviosas responden de forma distinta a la aplicación de frecuencias similares, exhibiendo formas de plasticidad que difieren en el corto y largo plazo. La respuesta de la vía hipocampal ante la estimulación repetida mostró una marcada dependencia de la frecuencia utilizada, encontrándose una depresión persistente ante las frecuencias bajas, casi ningún cambio ante una frecuencia moderada y un incremento ante estimulación tetánica. En tanto que en la vía córtico-talámica difiere en el umbral en el que se produce una potenciación de la respuesta y encuentra en una baja frecuencia, en un punto ubicado entre 1 y 3Hz. Además, en la vía CT la potenciación alcanza sus niveles máximos ante frecuencias bajas o moderadas, y no es mayor ante la

aplicación de frecuencias tetanizantes, como se observa en el hipocampo.

Respecto a la facilitación ante pares de pulsos, la vía hipocampal no mostró diferencias marcadas con los valores de línea base, después de la aplicación de trenes de estimulación. Lo anterior difiere de lo encontrado en la vía córtico-talámica en donde la potenciación de largo plazo conllevó a una disminución en la facilitación ante pares de pulsos. Este resultado sugiere que ambas vías utilizan mecanismos de expresión de potenciación distintos; el mantenimiento de la relación entre el primer y segundo pulso en los protocolos de facilitación ante pares de pulsos se ha asociado a mecanismos postsinápticos, mientras que la oclusión del fenómeno sugiere mecanismos de tipo presináptico.

Las diferencias se extienden a los cambios de corto plazo que exhiben las dos vías en los minutos posteriores a la aplicación de trenes de pulsos. En la vía hipocampal, los cambios en el corto plazo concuerdan con la dirección del cambio que se registra 30 minutos después. En el caso de las frecuencias que condujeron a la depresión de la vía, se observaba una disminución inmediata de la respuesta sináptica para recobrase parcialmente y estabilizarse minutos después; las frecuencias potenciadoras de la respuesta encontraban un incremento posttetánico superior a la potenciación de largo plazo. Esto difiere con lo registrado en la vía CT, en donde la depresión sináptica en el largo plazo es precedida por un incremento o un nivel similar al observado durante la línea base en

los primeros minutos posteriores a la aplicación de estimulación con la frecuencia de 1Hz; mientras que en las frecuencias en las que se registraba LTP se encontraron niveles de potenciación postetánica muy superiores a los encontrados en la vía hipocampal.

Conclusiones

Plasticidad de largo plazo
Comparación con la vía hipocampal
Mecanismos moleculares
 Mecanismos de LTD
Importancia de la plasticidad de largo plazo
Papel de la potenciación en
el sistema tálamo-cortical

Plasticidad de largo plazo en las vías córtico-talámicas

El estudio de fenómenos plásticos es importante para el entendimiento de los mecanismos utilizados en el sistema nervioso para responder a las modificaciones en el ambiente que le rodea. Uno de los fenómenos plásticos que ha generado interés es la potenciación de largo plazo o LTP, al que se ha propuesto como mecanismo celular de memoria en mamíferos (Bliss and Collindridge, 1993).

En este trabajo se presentaron los resultados obtenidos a partir del estudio electrofisiológico realizado en las vías corticales que proyectan al núcleo ventrobasal del tálamo que recibe aferentes primarias somatosensoriales (Jones 1985). En él se pretendió evaluar si esta vía podía expresar cambios plásticos de largo plazo como resultado de la aplicación de estimulación repetida.

Se encontró que la estimulación repetida con una frecuencias desde 3Hz conduce a un incremento persistente en la

respuesta o LTP en la vía córtico-talámica. El uso de frecuencias mayores no produce una mayor potenciación. Además del hallazgo de la capacidad de la vía para potenciarse por un largo periodo, se encontró una tendencia similar a el fenómeno descrito por Dudek y Bear (1992) en vías hipocámpales y en otras regiones del CNS (Linden, 1994) denominado LTD o depresión a largo plazo.

El hecho de que frecuencias relativamente bajas se traduzcan en la inducción de LTP en esta vía, aumenta las posibilidades de que este tipo de modificaciones plásticas ocurran naturalmente. Esto concuerda con la creciente evidencia de que los cambios a largo plazo no son un fenómeno aislado de unas cuantas vías (hipocámpales), sino algo común en el sistema nervioso. Además apoya la menos robusta evidencia de que al igual que el LTP, el LTD es un fenómeno común en el sistema nervioso.

El protocolo experimental incluyó el estudio de la facilitación en la aplicación de un segundo pulso o PPF (del inglés pair pulse facilitation), a lo largo de todos los registros. Este es un tipo de plasticidad sináptica de muy corto plazo que se ha asociado a cambios en la probabilidad de liberación de neurotransmisor en las terminales sinápticas, por parte de las células presinápticas.

El análisis de los cambios en la relación entre el primer y segundo pulso aplicados, muestra una disminución en la facilitación en los registros en los que la frecuencia utilizada dio lugar a una potenciación de largo plazo. Esto sugiere que, al menos

en parte, la potenciación de largo plazo observada en las preparaciones involucra cambios presinápticos como se ha observado previamente en otras vías en donde los mecanismos de potenciación son presinápticos (Zalutsky y Nicoll, 1990, Salin et al, 1996); y, contrasta con los resultados en la región de CA1, donde la potenciación se ha asociado a cambios postsinápticos (Bliss and Collidridge, 1993). A favor de esta posibilidad se encuentran los resultados de experimentos recientemente realizados en el laboratorio, en los que se aplicaron frecuencias de 10Hz y 100Hz en presencia del antagonista de los receptores NMDA, AP5, en ellos se encontró que la LTP no se ve afectada por el bloqueo de los receptores NMDA y podrían sugerir que los cambios son presinápticos, o que al menos no son mediados de la misma manera que en las vías hipocampales.

En el corto plazo se observó que las vías córtico-talámicas presentan una fuerte potenciación inmediatamente después de la aplicación de los trenes de estimulación. Este fenómeno, reportado como potenciación de corto plazo, ocurre también en las vías hipocampales. Sin embargo en las vías CT es mucho más pronunciado y se presentó también en algunos registros en los que se aplicó la frecuencia que da lugar a la depresión de la vía.

Comparación con la vía colateral de Schaffer

Uno de los problemas que existe en la literatura acerca del estudio de los cambios plásticos en el sistema nervioso es el uso de distintos protocolos de experimentación, sujetos de distintas especies o etapas de desarrollo. Ello dificulta la comparación de los resultados y conduce a conclusiones contradictorias (Edwards, 1998). Con el fin de comparar los resultados en la relación entre la frecuencia de estimulación y los cambios obtenidos en el corto y largo plazo así como en la facilitación ante pares de pulsos, se realizaron registros simultáneos en las vías córtico-talámicas y la vía colateral de Schaffer (ampliamente estudiada en el pasado).

Los cambios encontrados en las vías hipocampales corresponden a los anteriormente reportados en la literatura (Bliss and Collindridge, 1993; Malenka y Nicoll, 1993; Dudek and Bear, 1992, 1993), lo que demuestra que el protocolo experimental utilizado en el presente estudio es comparable con ellos, y por lo tanto, la discrepancia encontrada en las vías córtico-talámicas a una diferencia en la respuesta de ambas vías ante condiciones similares.

Mecanismos moleculares

Gran parte de la literatura acerca de la potenciación a largo plazo actualmente se centra en la caracterización de los cambios a nivel molecular que subyacen a los cambios en la fuerza sináptica. Mucho se ha avanzado en este sentido, gracias al desarrollo de

técnicas elaboradas incluyendo la manipulación genética (Silva et al, 1998). La mayor parte de estos estudios se realizan en las vías hipocampales. Sin embargo los resultados deben ser generalizados a otras vías con cautela, ya que existe evidencia de que los mecanismos moleculares varían para las distintas vías, dando evidencia de que bajo el término LTP se engloba a una variedad de mecanismos (Malenka, 1994).

La precisa caracterización de los mecanismos moleculares que dan cuenta de los cambios observados en estas vías, ciertamente, está mas allá del alcance del presente estudio. Sin embargo, los registros reportados en este trabajo así como recientes experimentos realizados en el laboratorio en el que se llevó a cabo el trabajo experimental, proveen información acerca de los mecanismos que podrían estar implicados si se toman en cuenta los resultados obtenidos por otros grupos de investigación en otras vías.

La disminución de la facilitación en la estimulación por pares de estímulos después de la inducción de la facilitación o LTP, es un indicador de que al menos en parte el cambio en la amplitud de la respuesta esta mediado por algún mecanismo presináptico (Zalutsky y Nicoll, 1990; Salin et al., 1996). En datos preliminares, la aplicación en las preparaciones del antagonista de los receptores NMDA, AP5 ha fallado en impedir la potenciación observada, estos resultados sugieren que un mecanismo presináptico podría

estar implicado (Zalutsky y Nicoll 1990; Salin et al. 1996), sin embargo, el número de registros no permiten hacer una comparación para observar si la potenciación es del mismo nivel que en los registros libres de este fármaco.

Estos cambios podrían implicar la entrada de calcio, en las terminales presinápticas, como se ha encontrado que es el caso en otras vías (Salin et al. 1996). De ser así, el calcio podría modificar la probabilidad de liberación de neurotransmisor o la cantidad liberada mediante la inducción de la fabricación de cAMP, activando a las proteínas kinasas dependientes de calcio, modificando el estado de activación de los canales de calcio, potasio o de sodio; como se ha observado que ocurre en otros sitios en los que se ha estudiado la transducción de la señal. La exposición de las preparaciones a un agonista de la actividad de cAMP, fuscolina, provoca un incremento en la respuesta sináptica y persistente en el tiempo, similar al obtenido mediante la estimulación tetánica, según lo indican los resultados preliminares.

Posibles mecanismos para LTD

En el caso de los registros en los que se aplicó la frecuencia de 1Hz dando lugar a una tendencia a la depresión de la vía, el cambio en la relación entre los dos pulsos fue inverso. Como se ha reportado para otras vías, la depresión de largo plazo no necesariamente se expresa a través de cambios similares a los que

permiten la expresión de la potenciación de largo plazo. En las vías paralelas del cerebelo, por ejemplo, se ha encontrado que mientras la potenciación de la respuesta sináptica implica cambios presinápticos, el fenómeno de LTD observado en las mismas vías ocurre gracias a cambios postsinápticos (Salin et al. 1996). De ser este el caso, podrían hallarse implicados los receptores NMDA, permitiendo la entrada de calcio a las terminales postsinápticas (Dudek and Bear, 1992).

La creciente cantidad de datos acerca de los mecanismos moleculares que explican los cambios en la eficiencia sináptica en vías distintas a las hipocámpales permiten apreciar que los fenómenos plásticos de largo plazo están asociados a una variedad de mecanismos que en ciertas vías ocurren en la célula postsináptica o en la presináptica y en otros casos en ambas (Eduards, 1995). Esto pone de manifiesto la necesidad de realizar más estudios en otras vías del sistema nervioso fuera del hipocampo y además restringe la generalización de los resultados obtenidos en esta vía, es decir, que no son aplicables a los fenómenos plásticos en otras zonas, mientras no se obtenga evidencia experimental a favor de ello.

Importancia de los fenómenos plásticos de largo plazo

El hecho de que este tipo de plasticidad se encuentre en zonas no ampliamente asociadas a procesos de memoria y

aprendizaje sugiere que el LTP es un mecanismo de uso más general utilizado en otras funciones además del almacenamiento información. De ser así, los cambios a largo plazo podrían ser una herramienta clave en la reorganización del peso de las conexiones sinápticas. Esto necesariamente plantea que el sistema nervioso como una entidad en constante transformación.

Los resultados obtenidos son pues una invitación a buscar correlatos de fenómenos plásticos de largo plazo con funciones del sistema nervioso distintas al almacenamiento de información. El estudio de este tipo de cambios y su relación con distintos estados como el sueño, vigilia, exploración, etc. podrían ayudar a encontrar una conexión entre los cambios plásticos de largo plazo y el comportamiento, que por décadas se ha escapado de las manos de los investigadores.

Probablemente los resultados negativos o no concluyentes respecto a la relación del LTP con el fenómeno de la memoria, no necesariamente significan que el fenómeno no se presente en condiciones naturales, sino que los protocolos usados para estudiar aprendizaje son tan complicados y difusos que hacen difícil cualquier interpretación (Malenka, 1997).

Papel de los cambios plásticos en esta vía

Sin duda alguna el establecimiento del papel que podrían jugar los cambios plásticos encontrados en la vía córtico-talámica,

se encuentra a la espera de evidencia que clarifique la función de la vía en general dentro del sistema tálamo-cortical. Se ha propuesto anteriormente que las vías córtico-talámicas podrían funcionar como un modulador de la actividad de las células talámicas (Kalil y Chase, 1970; Guillery, 1995; Jones, 1985). En este sentido, el hallazgo de fenómenos de potenciación de largo plazo en la vía córtico-talámica, provee de un mecanismo en el que estas vías podrían modificar la actividad de las células talámicas.

Las células del tálamo son altamente sensibles a la frecuencia de estimulación recibida, cambiando las modalidades de respuesta. Estos cambios de modalidad se asocian con la presentación de patrones oscilatorios distintos, que a su vez influyen la actividad cortical (Castro-Alamancos y Connors, 1997). Los distintos patrones oscilatorios en la actividad del cerebro corresponden a distintos estados conductuales y distintos niveles de atención (Castro-Alamancos and Connors 1996); la ocurrencia de la potenciación de largo plazo en las vías córtico-talámicas podría ayudar a asegurar el mantenimiento de actividad rítmica por periodos prolongados dentro de la red neuronal (Alonso et al. 1990).

Comentarios y propuestas a futuro

El estudio de las características funcionales de las distintas vías de comunicación dentro del sistema nervioso central es una herramienta en el estudio de su funcionamiento del sistema nervioso central. Los resultados obtenidos mediante el registro de la actividad sináptica proveen información acerca de los circuitos de procesamiento del sistema nervioso que subyacen a la generación de comportamiento y al almacenamiento de información. Los estudios electrofisiológicos ofrecen gran cantidad de información para el planteamiento de modelos de redes neurales más precisos, y pueden ser la base de otros estudios en animales vivos.

Con respecto a plasticidad sináptica

Uno de los caminos a seguir es dilucidar los mecanismos moleculares implicados en los cambios plásticos, mediante la realización de registros en presencia de bloqueadores de ciertos receptores (NMDA, AMPA, por ejemplo) e inhibidores de la actividad de ciertas enzimas relacionadas con los cambios plásticos (bloqueadores de la producción de cAMP, inhibidores de las cinasas CaMKII, PKA, PKC); esto con el fin de establecer cuales son los cambios necesarios el interior de la célula para el

establecimiento y mantenimiento de la LTP, y si estos ocurren de forma presináptica o postsináptica.

Uno de los puntos que quedan por comprobar es si el sistema nervioso utiliza el cambio en el peso de ciertas conexiones sinápticas en condiciones naturales. La mayor parte de los estudios sobre LTP y LTD en el sistema nervioso central se han realizado utilizando modelos en los que estos cambios se inducen artificialmente. Los estudios en los que han abordado la posibilidad de que el SNC haga uso de los mecanismos plásticos de largo plazo, están relacionados con procesos de aprendizaje y memoria. Sin embargo, estos esfuerzos han producido pocos y contradictorios resultados.

Es necesario estudiar además el papel de estos cambios en el funcionamiento de los circuitos para el procesamiento de nueva información. Esto requiere principalmente el estudio de redes neurales en las que se simule la ocurrencia de cambios en los valores de ciertas conexiones y sus consecuencias en la red en su totalidad.

En las vías córtico-talámicas

Con respecto al papel de los cambios encontrados en la vía estudiada, se pueden establecer los siguientes caminos para futuros proyectos. Es posible estudiar la relación de este tipo de plasticidad con la actividad de otros inputs de los núcleos talámicos mediante la realización de registros en los que se utilicen agonistas o

antagonistas de distintos neurotransmisores que imiten la actividad de otros núcleos. Con base en los resultados de estudios como estos se podría estudiar la dependencia de los cambios plásticos con los estados de conducta desplegados por los animales in vivo y posteriormente establecer si estos cambios son utilizados por el sistema nervioso como herramienta para responder ante el medio. A partir de ahí se podría generar un modelo de la modulación de la comunicación córtico-talámica.

Referencias

- Abel T; Nguyen PV; Barad M; Deuel TA; Kandel ER; Bourtchouladze R (1997). Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell*, 88(5):615-26.
- Abraham WC; Tate WP (1997). Metaplasticity: a new vista across the field of synaptic plasticity. *Prog Neurobiol*, 52(4):303-23.
- Adamec RE (1998). Evidence that NMDA-dependent limbic neural plasticity in the right hemisphere mediates pharmacological stressor (FG-7142)-induced lasting increases in anxiety-like behavior. Study 1--Role of NMDA receptors in efferent transmission from the cat amygdala. *J Psychopharmacol*, 12(2):122-8.
- Agmon A; Connors BW (1991). Thalamocortical responses of mouse somatosensory (barrel) cortex in vitro. *Neuroscience*, 41(2-3):365-79.
- Alonso A; de Curtis M; Llinás R (1990). Postsynaptic Hebbian and non-Hebbian long-term potentiation of synaptic efficacy in the entorhinal cortex in slices and in the isolated adult guinea pig brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87(23):9280-4.
- Amaral, D.G. & Witter, M.P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31, 571-591.
- Andersen P; Junge K; Sveen O (1967) Cortico-thalamic facilitation of somatosensory impulses. *Nature*, 214(92):1011-2
- Andersen P; Sundberg SH; Sveen O; Wigström H (1977). Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices. *Nature*, 266(5604):736-7

- Asanuma H; Pavlides C (1997). Neurobiological basis of motor learning in mammals. *Neuroreport*, 8(4):i-vi
- Ascher P. Nowak L (1988). The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. *Journal of Physiology*. 399:247-66.
- Bailey CH; Kandel ER (1995). Molecular and structural mechanisms underlying long term memory. Ed. Gazzaniga, Michael S. *Cognitive neuroscience*. Chapter 2 19-33.
- Barnes CA (1995). Involvement of LTP in memory: Are we searching under the street light? *Neuron* 15, 751-54.
- Barria A, Derkach V, Soderling T (1997). Identification of the Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase lipophosphorylation site in the alpha-amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate-type glutamate receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 272(52), 32727-30.
- Bermudez Rattoni F (1998). Codificación de la memoria. *Ciencia* 49(2), 23-28.
- Bermudez-Rattoni F; Introini-Collison IB; McGaugh JL (1991). Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88(12):5379-82
- Bliss, T. V. and Collindridge (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361. 31-39.
- Bliss T. V. and Lomo T. (1973). *Journal of Physiology*, London, 232, 357-374.
- Bohbot VD, Kalina M, Stepankova K, Spackova N, Petrides M, Nadel L (1998). Spatial memory deficits in patients with lesions to the right hippocampus and to the right parahippocampal cortex. *Neuropsychologia* 36(6).

- Bourassa J; Pinault D; Deschenes M (1994). Corticothalamic projections from the cortical barrel field to the somatosensory thalamus in rats: a single-fibre study using biocytin as an anterograde tracer. *European Journal of Neuroscience*. 7, 19-30.
- Brailowsky, Simón; Piña, Ana Luisa (1991). La plasticidad cerebral. *Ciencia* 42, 355-366.
- Buonomano DV; Merzenich MM (1998). Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 149-86.
- Bramham CR; Southard T; Sarvey JM; Herkenham M; Brady LS (1996). Unilateral LTP triggers bilateral increases in hippocampal neurotrophin and trk receptor mRNA expression in behaving rats: evidence for interhemispheric communication. *J Comp Neurol*, 368(3):371-82
- Burton H; Kopf EM (1984). Ipsilateral cortical connections from the second and fourth somatic sensory areas in the cat. *J Comp Neurol*, 225(4):527-53.
- Cain DP (1997). LTP, NMDA, genes and learning. *Curr Opin Neurobiol*. 7(2):235-42
- Cain DP (1998). Testing the NMDA, long-term potentiation, and cholinergic hypotheses of spatial learning. *Neurosci Biobehav Rev*, 22(2):181-93
- Castro-Alamancos MA; Connors BW (1996). Short-term plasticity of a thalamocortical pathway dynamically modulated by behavioral state *Science*, 272(5259):274-7.
- Castro-Alamancos MA; Connors BW (1997). Thalamocortical synapses. *Prog Neurobiol*, 51(6):581-606.
- Collingridge GL. Kehl SJ. McLennan H.(1983). Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *Journal of Physiology*. 334:33-46.

- Conley M; Diamond IT (1990). Organization of the visual sector of the thalamic reticular nucleus in Galago. Evidence that the dorsal lateral geniculate and pulvinar nuclei occupy parallel tiers. *European Journal of Neuroscience* 2. 211-226.
- Conley M; Raczkowski D (1990). Sublaminar organization within layer VI of the striate cortex in Galago. *J Comp Neurol*, 302(2):425-36.
- Crunelli V. Mayer ML (1984). Mg^{2+} dependence of membrane resistance increases evoked by NMDA in hippocampal neurones. *Brain Research*. 311(2):392-6.
- Dash PK; Hochner B; Kandel ER (1990). Injection of the cAMP-responsive element into the nucleus of *Aplysia* sensory neurons blocks long-term facilitation. *Nature*, 345(6277):718-21
- Davis, S, Butcher SP and Morris RGM (1992). The NMDA receptor antagonist D-AP5 impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *J.of Neuroscience* 12, 21-34.
- Davis HP; Squire LR (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull*, 96(3):518-59.
- Donaldson L; Hand PJ; Morrison AR (1975). Cortical-thalamic relationships in the rat. *Exp Neurol*, 47(3):448-58.
- Dykes RW; Gabor A (1981). Magnification functions and receptive field sequences for submodality-specific bands in SI cortex of cats. *J Comp Neurol*, 202(4):597-620.
- Dudek SM; Bear MF (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89(10):4363-7.
- Dudek SM; Bear MF (1993). Bidirectional long-term modification of synaptic effectiveness in the adult and immature hippocampus *J. Neurosci.* 13, 2910-18.

- Edwards FA (1995). LTP- a structural model to explain the inconsistencies. *TINS* 18(6), 250-255.
- Escobar ML; Chao V; Bermúdez-Rattoni F (1998). In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Res*, 779(1-2):314-9.
- Fazeli MS; Errington ML; Dolphin AC; Bliss TV (1990). Increased efflux of a haemoglobin-like protein and an 80 kDa protease into push-pull perfusates following the induction of long-term potentiation in the dentate gyrus. *Brain Res*, 521(1-2):247-53.
- Feldman DE; Nicoll RA; Malenka RC; Isaac JT (1998). Long-term depression at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex. *Neuron*, 21(2):347-57
- Gazzaniga, Michael S. Editor (1995). *Cognitive neuroscience*. Chapters 2, 51-54.
- Gerard, Ralph W. (1953). What is memory? *Scientific American* 189: 118-26.
- Guillery RW (1969). A quantitative study of synaptic interconnections in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Zeitschrift für Zelforschung* 96 39-48.
- Guillery RW (1995). Anatomical evidence concening the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. *J Anat* 187, 583-592.
- Gutierrez H, Hernandez Echegaray E, Ramirez-Amaya V and Bermudez-Rattoni F (1999). Blokade of N-methyl –D-aspartate receptors in the insular cortex disrupts taste aversion and spatial memory formation. *Neuroscience* 89(3), 751-758.
- Hagiwara M; Brindle P; Harootunian A; Armstrong R; Rivier; J Vale W (1993). Coupling hormonal stimulation and transcription via the cyclic AMP-responsive factor CREB is rate limited by nuclear entry of protein kinase A. *Molecular Cell Biology* 13, 4852-59.

- Hall ZW (1992). Introduction to molecular neurobiology. Massachusetts: Sinauer Associates INC.
- Harding BN (1973). An ultrastructural study of the centre median and ventrolateral thalamic nuclei of the monkey. *Brain Res*, 54():335-40.
- Harris EW, Ganong AH, Cotman CW. (1984). Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Research*. 323(1):132-7.
- Hebb DO (1949). The organization of behavior. New York: Wiley.
- Herkenham (1986). New perspectives on the organization and evolution of nonspecific thalamocortical projections. Eds Jones EG and Peters A. *Cerebral cortex Vol.5* 403-446. New York: Plenum Press.
- Heynen AJ; Abraham WC; Bear MF (1996). Bidirectional modification of CA1 synapses in the adult hippocampus in vivo. *Nature*, 381(6578):163-6
- Hölscher C (1997). Long-term potentiation: a good model for learning and memory? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 21(1):47-68
- Huang YY; Li XC; Kandel ER (1994). cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell*, 79(1):69-79.
- Iriki A; Pavlides C; Keller A; Asanuma H (1989). Long-term potentiation in the motor cortex. *Science*, 245(4924):1385-7.
- Iriki A; Pavlides C; Keller A; Asanuma H (1991). Long-term potentiation of thalamic input to the motor cortex induced by coactivation of thalamocortical and corticocortical afferents. *J Neurophysiol*, 65(6):1435-41.

- Jahr CE; Stevens CF (1987). Glutamate activates multiple single channel conductances in hippocampal neurons. *Nature*, 325(6104):522-5.
- Jeffery KJ (1997). LTP and spatial learning--where to next? *Hippocampus*, 7(1):95-110
- Jones EG (1975). Some aspects of the organization of the thalamic reticular complex. *J Comp Neurol*, 162, 285-308.
- Jones EG. (1985). *The Thalamus*. New York: Plenum Press.
- Jones EG; Powell TP (1969). An electron microscopic study of the mode of termination of cortico-thalamic fibres within the sensory relay nuclei of the thalamus. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 172(27):173-85.
- Jones EG; Powell TP (1970). Connexions of the somatic sensory cortex of the rhesus monkey. 3. Thalamic connexions. *Brain*, 93(1):37-56.
- Jones EG; Rockel AJ (1971). The synaptic organization in the medial geniculate body of afferent fibres ascending from the inferior colliculus. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 113(1):44-66.
- Cheng Liang K, Hon W, Davis M (1994). Pre- and posttraining infusion of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists into the amygdala impair memory in an inhibitory avoidance task. *Behavioral Neuroscience* 2, 241-253.
- Kalil RE; Chase R (1970). Corticofugal influence on activity of lateral geniculate neurons in the cat. *J Neurophysiol*, 33(3):459-74.
- Kandel, Eric R. y Hawkins, Robert D. (1992). Bases biológicas del aprendizaje y la individualidad. *Investigación y Ciencia*. 49-57.
- Kennedy MB; Bennett MK; Bulleit RF; Erondy NE; Jennings VR; Miller SG; Molloy SS; Patton BL; Schenker LJ (1990). Structure and regulation of type II calcium/calmodulin-dependent protein kinase in central nervous system neurons. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 55:101-10.

- Kennedy MB and Marder EM, (1992). Cellular and molecular mechanisms of neuronal plasticity. Introduction to molecular neurobiology ed by Hall ZW. Massachusetts: Sinauer Associates INC.
- Kim M; McGaugh JL (1992). Effects of intra-amygdala injections of NMDA receptor antagonists on acquisition and retention of inhibitory avoidance. *Brain Res*, 585(1-2):35-48.
- Kirkwood A; Bear MF (1994). Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. *J Neurosci*, 14(5 Pt 2):3404-12.
- Kirkwood A; Dudek SM; Gold JT; Aizenman CD; Bear MF (1993). Common forms of synaptic plasticity in the hippocampus and neocortex in vitro. *Science*, 260(5113):1518-21.
- Kogan JH; Frankland PW; Blendy JA; Coblenz J; Marowitz Z; Schütz G; Silva AJ (1997). Spaced training induces normal long-term memory in CREB mutant mice. *Curr Biol*, 7(1):1-11.
- Kombian SB; Malenka RC (1994). Simultaneous LTP of non-NMDA- and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nucleus accumbens. *Nature*, 368(6468):242-6
- Levy WB; Steward O (1979). Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation. *Brain Res*, 175(2):233-45.
- Linden DJ (1994). Long-term synaptic depression in the mammalian brain. *Neuron*, 12(3):457-72.
- Linden DJ; Connor JA (1993). Cellular mechanisms of long-term depression in the cerebellum. *Curr Opin Neurobiol*, 3(3):401-6.
- Lisman J (1994). The CaM kinase II hypothesis for the storage of synaptic memory. *Trends Neurosci*, 17(10):406-12.
- Lynch GS; Dunwiddie T; Gribkoff V (1977). Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature*, 266(5604):737-9.

- Macchi G (1983). Old and new anatomo-functional criteria in the subdivision of the thalamic nuclei. Eds. Macchi A; Rustoni R. Somatosensory integration in the thalamus. Amsterdam: Spreafico. Elsevier.
- MacDermott AB; Mayer ML; Westbrook GL; Smith SJ; Barker JL (1986). NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones *Nature*, 321(6069):519-22.
- Mahut H; Moss M; Zola-Morgan S (1981). Retention deficits after combined amygdalo-hippocampal and selective hippocampal resections in the monkey. *Neuropsychologia*, 19(2):201-25.
- Malenka RC (1994). Synaptic plasticity in the hippocampus: LTP and LTD. *Cell*, 78(4):535-8.
- Malenka RC, Kauer JA, Mauk MD, Kelly PT et al. (1989). An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long term potentiation. *Nature* 340(6234), 554-57.
- Malenka RC; Nicoll RA (1993). NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci*, 16(12):521-7
- Malenka RC; Nicoll RA (1997) Learning and memory. Never fear, LTP is here *Nature*, 390(6660):552-3 1.
- Maren S (1996). Synaptic transmission and plasticity in the amygdala. An emerging physiology of fear conditioning circuits. *Mol Neurobiol*, 13(1):1-22
- Maren S; Baudry M (1995). Properties and mechanisms of long term synaptic plasticity in the mammalian brain: relationships to learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 63, 1-18.
- Martínez, Joe L. y Derrick, Brian E. (1996). Long term potentiation and learning. *Annual Review of Psychology*. 47: 173-203.

- Matthies H (1989). In search of cellular mechanisms of memory. *Prog Neurobiol*, 32(4):277-349.
- Mayford M; Bach ME; Huang YY; Wang L; Hawkins RD; Kandel ER (1996). Control of memory formation through regulated expression of a CaMKII transgene. *Science*, 274(5293):1678-83
- McCormick DA (1992). Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog Neurobiol*, 39(4):337-88.
- McKernan MG; Shinnick-Gallagher P (1997). Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro *Nature*, 390(6660):607-11.
- McNaughton BL; Douglas RM; Goddard GV (1978). Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents. *Brain Res*, 157(2):277-93.
- Mishkin M (1978). Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature*, 273(5660):297-8.
- Montarolo PG; Goelet P; Castellucci VF; Morgan J; Kandel ER; Schacher S (1986). A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in *Aplysia*. *Science*, 234(4781):1249-54.
- Montkowski A; Holsboer F. (1997). Intact spatial learning and memory in transgenic mice with reduced BDNF. *Neuroreport*, 8(3):779-82.
- Morimoto K; Sato K; Sato S; Yamada N; Hayabara T (1998). Time-dependent changes in neurotrophic factor mRNA expression after kindling and long-term potentiation in rats. *Brain Res Bull*, 45(6):599-605.
- Morris RG; Anderson E; Lynch GS; Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by

- an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319(6056):774-6.
- Morris RG; Garrud P; Rawlins JN; O'Keefe J (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297(5868):681-3.
- Mountcastle (1995). The evolution of ideas concerning the function of the neocortex. *Cerebral Cortex* 5. 289-295.
- Nayak A; Zastrow DJ; Lickteig R; Zahniser NR; Browning MD (1998). Maintenance of late-phase LTP is accompanied by PKA-dependent increase in AMPA receptor synthesis. *Nature* 394(6694): 680-3.
- Nguyen PV; Abel T; Kandel ER (1994). Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science*, 265(5175):1104-7.
- Nieto Sampedro, Manuel (1988). Plasticidad sináptica. *Investigación y Ciencia*. 138:40-49.
- Nowak L. Bregestovski P. Ascher P. Herbert A. Prochiantz A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature* 307(5950):462-5.
- Ojima H (1994). Terminal morphology and distribution of corticothalamic fibers originating from layers 5 and 6 of cat primary auditory cortex. *Cereb Cortex*, 4(6):646-63.
- Prado-Alcalá RA; Bermúdez-Rattoni F; Velázquez-Martínez DN; Bacha G (1978). Cholinergic blockade of the caudate nucleus and spatial alternation performance in rats: overtraining induced protection against behavioral deficits. *Life Sci*, 23(9):889-96
- Rogan MT; Stäubli UV; LeDoux JE (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala *Nature*, 390(6660):604-7

- Salin PA; Malenka RC; Nicoll RA (1996). Cyclic AMP mediates a presynaptic form of LTP at cerebellar parallel fiber synapses. *Neuron*, 16(4):797-803.
- Sassoni-Corsi P (1995). Transcription factors responsive to cAMP. *Annual Review of Cell Developmental Biology* 11, 355-77.
- Scoville WB; and Milner B (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol., Neurosur. Psychiatry* 20, 11-21.
- Shimamura AR (1995). Memory and frontal lobe function. Ed. Gazzaniga, Michael S. *Cognitive neuroscience*. Chapter 51, 803-813.
- Shors TJ; Matzel LD (1997). Long-term potentiation: what's learning got to do with it? *Behav Brain Sci*, 20(4):597-614.
- Silva AJ; Kogan JH; Frankland PW; Kida S (1998). CREB and memory. *Annu Rev Neurosci*, 21():127-48.
- Somogyi G; Hajdu F; Tömböl T (1978). Ultrastructure of the anterior ventral and anterior medial nuclei of the cat thalamus. *Exp Brain Res*, 31(3):417-31
- Squire LR (1998). Memory systems. *C R Acad Sci III*, 321(2-3):153-6.
- Squire LR; Knowlton (1995). Memory, hippocampus, and brain systems. Ed. Gazzaniga, Michael S. *Cognitive neuroscience*. Chapter 53, 825-837.
- Steriade, M; Jones EG; Llinás RR (1990). *Thalamic oscillations and signaling*. New York: Wiley.
- Tömböl T (1967). Short neurons and their synaptic relations in the specific thalamic nuclei. *Brain Res*, 3(4):307-26.
- Tsumoto T (1992). Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Prog Neurobiol*, 39(2):209-28.