



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

INTERACCIÓN METAPLÁSTICA DEL CONDICIONAMIENTO DE
AVERSIÓN A LOS SABORES Y LA POTENCIACIÓN DE LARGO
PLAZO DEPENDIENTE DEL BDNF EN LA NEOCORTEZA DE
RATAS ADULTAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
PRESENTA

ALEJANDRO RIVERA OLVERA



DIRECTOR : DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ
REVISOR : DR. OSCAR VLADIMIR ORDUÑA TRUJILLO

EL ESTUDIO OBJETO DE LA PRESENTE TESIS FUE POSIBLE GRACIAS
AL APOYO DE PAPIIT PROYECTO (IN212013)

MÉXICO, D. F., 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

*La memoria no es lo que recordamos, sino lo que nos recuerda.
La memoria es un presente que nunca acaba de pasar.
Octavio Paz.*

Agradecimientos

Esta tesis fue lograda gracias al apoyo de PAPIIT proyecto IN212013.

Pues por fin, después de tantos años de trabajo y experiencia.

Escépticos: ¡Ya llegué a la meta!, ahora a seguir caminando por este sendero que me tiene preparadas varias sorpresas.

Quiero agradecer antes que a nadie a mi alma mater, mi segunda casa, mi universo, mi inspiración, mi orgullo, mi pasión, mi felicidad, mi crecimiento. Gracias querida UNAM, y a todo aquello que representa esta asombrosa casa de estudios, la cual me ha dado todo, la que me ha hecho amar la vida y ha nutrido insaciablemente mi curiosidad, gracias porque desde hace más de diez años le has dado rumbo a mi vida, me has hecho toparme con un sinfín de seres únicos y que han cambiado mi forma de pensar y vivir, me has hecho sufrir y gracias a eso crecer y madurar. En fin, te debo mucho y me siento orgulloso de ser una unidad más de ti. Siempre defenderé a mi universidad ante todo y todos, ya que por ella me siento orgulloso de ser PUMA.

De igual forma quiero expresar mi gratitud a la Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez y para ello anticipo que me quedará corto de palabras para poder expresar toda la admiración y respeto que siento por ella. Doctora quiero agradecerle por ser mi maestra, por guiarme y por pulir mis cualidades; por contagiarme su pasión por la neurociencia y por ayudarme a realizar mi trabajo con la mayor pulcritud posible. Le agradezco su paciencia infinita y sus sabios consejos. Admiro su sabiduría, su serenidad y su forma de conducirse en la vida. Agradezco su respeto y sus consejos durante estos tres años que llevo en el laboratorio.

Al Dr. Oscar Zamora, gracias doctor, por abrirme las puertas de su laboratorio y por iniciarme en el campo de la ciencia.

A mis compañeros de laboratorio, sin ustedes sería nada, gracias por todo su apoyo y comprensión, gracias por hacer que este simple mortal, cuyo conocimiento en técnicas de laboratorio eran nulas, sea quien es hoy. Gracias por los innumerables *bebetones*. Les debo mucho y también me faltan palabras para expresarles mi gratitud. Gracias Betsa y Miguel por darme la bienvenida al lab., gracias Lau, te debo muchísimo, gracias por enseñarme a operar, a perfundir y por ser tan amable conmigo. Gracias por apoyarme en el viaje a Washington y por ayudarme a sobrellevar todas las peripecias que viví por allá (como lo del badge, jaja). Gracias a Ale por ser tan generosa con sus conocimientos y por siempre ayudarme durante el tiempo que compartimos en el lab, fuiste de gran ayuda y fuiste una gran fuente de aprendizaje.

Mención especial merecen:

El Dr. Rodríguez-Durán: Luisiño ¡eres grande!, agradezco a la vida haber podido toparme contigo, te debo mucho, mucho, mucho; eres una persona sumamente inteligente y divertida. Eres mi sensei y mucho de lo que ahora soy es gracias a ti. Gracias por siempre tener una respuesta para todo, y si no la tenías, la investigabas al instante jaja, gracias por no ser ordinario como nosotros los simples mortales jaja, porque siempre le dabas el toque serio a las charlas. En fin, GRACIAS POR TU GUÍA LUIS, estoy seguro que sin tu apoyo esto no sería una realidad.

Yec: Pffff... Yecs, no sé ni qué decir, desde que vi aquella compu infestada con estampas de varias de mis bandas favoritas supe que me caerías bien, gracias por tu interminable ayuda (hasta hace unos pocos minutos me estabas ayudando con la culminación de éste documento, jaja), gracias por los momentos de cotorreo en el laboratorio, has sido el balance perfecto para el ambiente del lab., gracias por alimentarme jaja, por

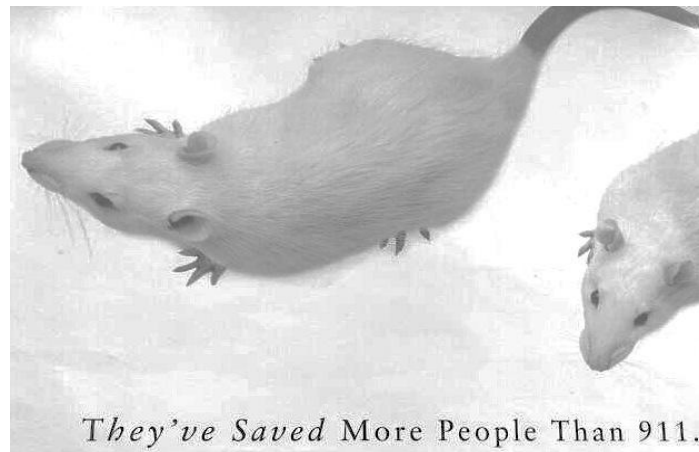
hacerme reír muchoooo y por apoyarme tanto académica como personalmente. Espero que sigamos pasándola bien y creciendo juntos. Te quiero.

*Somos nuestra memoria, somos ese quimérico museo de formas
inconstantes, ese montón de espejos rotos.
Jorge Luis Borges.*

Y Ara: Lara, no puedo creer que nos conocimos fugazmente, justo cuando yo llegaba y tú te ibas, y que íbamos a terminar coincidiendo de nuevo. También agradezco infinitamente toda tu ayuda, has sido parte fundamental de este proceso. Gracias por tus consejos y tu comprensión. Eres una persona increíble que ha estado ahí para tenderme una mano cuando no la he pasado bien, gracias por tu confianza y por ser tan buena amiga.

Gracias a mi revisor y sinodales: Dr. Oscar Vladimir Orduña Trujillo, Dra. Irma Yolanda del Río Portilla, Dra. Alejandra Evelyn Ruiz Contreras y Dra. Ariana Israela Balderas Moreno. Les agradezco sus correcciones y susamables puntos de vista hacia esta tesis, muchas gracias por sus palabras y por ayudarme a pulir este documento. A todos, muchas gracias por tomarse el tiempo de leer mi trabajo.

Y por último, gracias a mis ratas, gracias por ayudar a salvar tantas vidas y por permitirnos conocer más acerca de cómo funcionamos y entender el por qué estamos aquí. Me siento tranquilo de haber tratado a mis animales siempre con respeto y conducirme con ética hacia ellos. Gracias por ayudarme a llegar hasta aquí.



Dedicatorias

Este trabajo esta dedicado a la persona más importante en mi vida, a mi pilar, mi mano derecha, mi orgullo, mi razón de vivir, mi luz al final del túnel, mi alegría, mi ejemplo, mi inspiración, mi refugio, mi consuelo, mi primer contacto con la vida, mi creadora. Gracias madre mía, muchas gracias mamá. Aprovecho este espacio no sólo para agradecerte el apoyo brindado durante la realización de este trabajo sino también para manifestar mi agradecimiento por todo lo que me has dado. Gracias por tu lucha, por tu coraje y por tu inmensa sabiduría. Gracias por tus sacrificios, por haberte quitado el pan de la boca para darlo a tus hijos, por ser tan fuerte y tenaz y por el tiempo que me has regalado. ¡Te adoro infinitamente má!

Charly, gracias por formarme y ser el sustento de mis logros, por ayudarme a crecer y concebir lo extraordinario que es el mundo. Estoy en deuda contigo y siempre voy a estar ahí para ti. Gracias por tu ejemplo de disciplina y constancia, eres un gran padre, siempre voy a vivir orgulloso de ti.

A mis hermanos Juan e Iván, mi mayor fuente de inspiración, mis alegrías y enojos, mi crecimiento personal. Gracias por estar ahí siempre y por ayudarme a crecer. Gracias por enseñarme día con día algo nuevo.

A mis amigos, sin ellos no sería tan cómoda y divertida la vida. Además gracias a ustedes también he podido superar los numerosos baches por los que he pasado y me han hecho madurar. Perdón si no menciono

¡Oh, memoria, enemiga mortal de mi descanso!

Miguel de Cervantes Saavedra.

algunos nombres, pero ustedes saben que son varios, pero todo aquel con el que me he cruzado y entablado una relación de amistad sabe bien que se encuentra incluido en mis palabras de agradecimiento. Sin embargo, siempre hay personas fundamentales para uno, para lo cuál vale la pena gastar un poco más de papel y tinta.

A mis amigos del CCH. Sin ustedes la vida hubiera sido un camino de sinsabores, gracias por alegrar mi camino y por hacerme pasar una de las mejores etapas de mi vida. Siempre estarán en mis memorias (Angie, César, Julio, Allison, Jackie, etc.).

Jonas, estés donde estés, este logro va para ti hermano, gracias por tu amistad y por esos buenos momentos y borracheras que pasamos juntos. “Todos toman, yo tomo”, ¡salud carnal!

Canek, hermano te debo mucho, gracias por enseñarme tanto y por ser una guía en mi vida, siempre has sido un ejemplo a seguir para mí y te admiro mucho, ojalá nos sigamos reencontrando y recordando aquellos buenos momentos cchros.

Jaz, “este sí”, tú eres trascendental en mi vida, es más, no concibo la misma sin ti. Gracias por llegar en el momento indicado, gracias por reencontrarme. Tu amistad posee un valor incalculable para mí y agradezco haberme cruzado hace tantos años contigo, recuerda que Dios nos hace y nosotros nos juntamos jaja. Te quiero muchísimo, sigamos disfrutando de la vida, así, chingón mi osezno!

A mis amigos de la H. Facultad de Psicología, ustedes fueron pieza clave para disfrutar de la “culminación” de la vida escolar y con varios ustedes viví momentos épicos. Gracias por todo: David, Gres, Erandy, Paty, Mariana, Micky, Anto, Alba, Esme, Rasta, Lily, Ángel, etc.

Gracias en especial a los cucarachons: Janin, Valverde y Rod, gracias por el apoyo que me han brindado, sus consejos (casi siempre imparciales) y lo mejor, aquellas tardes de chelas y discusiones científicas, de la vida y sin sentidos en aquel refugio nuestro “La Facultad”, se extrañan esos tiempos pero en el camino andamos.

A una persona tremendamente especial: Dalia, ¡por fin llegué a este punto!, eres una persona invaluable para mí, no tengo palabras para expresar el cariño que te tengo y mi gratitud por todo lo que me has brindado durante estos años, gracias por ser una guerrera y ayudarme a levantar a lo largo de tantas caídas. Me siento orgulloso de ti y soy muy feliz por haberte conocido.

Y por último y no menos importante, a mis compas de universum. Gracias por los ratos de distracción y crecimiento a lo largo de este proceso, fue una gran experiencia. Mención especial tiene mi fiel compañera y prima académica Aketzali, gracias por tu amistad, por las risas y por los momentos intelectuales.

Para culminar con este apartado quiero agradecer al Dr. Homero Hernández y Montes de la facultad de química de la UNAM. Un profesor que cambió mi vida, cambió mi forma de ver al mundo y que a lo largo de estos meses ha hecho que se me caiga la baba día con día con sus explicaciones de los distintos fenómenos biológicos. Gracias a usted mi pasión por la ciencia ha crecido exponencialmente. Gracias profe, por ser una persona tan entusiasta, por amar la docencia, por preocuparse por nosotros sus alumnos y por abrirle las puertas, durante varios años, a tantos psicólogos que han asistido a sus clases. Usted es un ejemplo de vida para mí, tanto personal como académicamente. Espero poder encontrarme con profesores tan asombrosos como usted durante este camino.

ÍNDICE

Glosario de abreviaturas.....	3
1. RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCIÓN.....	5
3. ANTECEDENTES	7
3.1. Potenciación a largo plazo (LTP).....	8
3.1.1. Características generales de la LTP.....	11
3.1.2. Mecanismos moleculares de la LTP.....	12
3.1.3. LTP en la neocorteza.....	15
3.2. El condicionamiento de aversión a los sabores (CAS).....	16
3.3. La corteza insular y la vía gustativa.. ..	18
3.4. LTP y conducta.....	21
3.5. Plasticidad Homeostática.....	23
3.5.1. Metaplasticidad y escalamiento sináptico.....	24
3.5.2. Metaplasticidad y conducta.....	28
3.5.3. CAS y LTP en la corteza insular.....	29
3.6. Las neurotrofinas	30
3.6.1. El BDNF.....	32
3.6.2. BDNF y plasticidad sináptica.....	34
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	37
5. OBJETIVOS.....	38
6. HIPÓTESIS	38
7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	39
7.1. Animales.. ..	39
7.2. Entrenamiento en el CAS.	39
7.3. Procedimiento electrofisiológico.....	39
7.4. Curvas entrada-salida (I/O).....	41
7.5. Histoquímica de Nissl.	41
7.6. Análisis de Datos.	42
8. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	42
8.1. Fase 1	42
8.2. Fase 2.....	43
9. RESULTADOS.....	44
9.1. Resultados histológicos.....	44

9.2. Resultados fase 1: Efecto del BDNF en la plasticidad sináptica de la vía de comunicación Bla-CI.....	44
9.3. Resultados fase 2: El entrenamiento en el CAS modifica la inducción subsecuente de LTP dependiente de BDNF en la CI	46
9.3.1. Resultados conductuales	46
9.3.2. Resultados electrofisiológicos: El entrenamiento en el CAS modifica la posibilidad de inducir subsecuente plasticidad sináptica tras la infusión de BDNF en la CI.....	47
9.3.3. El entrenamiento en el CAS incrementa la excitabilidad de las neuronas de la proyección Bla-CI.....	50
10. DISCUSIÓN	51
11. PERSPECTIVAS.....	61
12. CONCLUSIÓN	61
13. REFERENCIAS.....	62

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

θm	Umbral de modificación
AC	Adenilatociclasa
ADQ	Adquisición
AHP	siglas en inglés para la hiperpolarización que sucede al potencial de acción
AMPC	Adenosínmonofosfato cíclico
AMPA	Receptor a glutamato tipo ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico
ANOVA	Análisis de varianza
AP	Anteroposterior
ARNm	Ácido ribonucléico mensajero
BCM	Bienestock, Cooper y Munro
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CaMKII	Proteína cinasa dependiente de calcio-calmodulina tipo II
CAS	Condicionamiento de aversión a los sabores
CON	Control
CPSEm	Corrientes postsinápticas excitatorias miniatura
CRE	Elemento responsivo a adenosinmonofosfato cíclico
CREB	Proteína de unión al elemento responsivo de adenosinmonofosfato cíclico
DV	Dorso-ventral
ERK	Proteína cinasa regulada por una señal extracelular
GABA	Ácido γ-aminobutírico
H ₂ O	Agua
I/O	Entrada-salida
IP3	Inositoltrifosfato
K252a	Inhibidor de los receptores de tirosina cinasa a neurotrofinas
LiCl	Cloruro de Litio
LTD	Depresión de largo plazo
LTP	Potenciación de largo plazo
MAPKs	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
MEK	Proteína cinasa regulada por mitógenos y por señales extracelulares
mGluR	Receptores metabotrópicos a glutamato
ML	Medial-lateral
NaCl	Cloruro de Sodio
NGF	Factor de crecimiento neuronal
NMDA	Receptor a glutamato N-metil-D-aspartato
NR2A	Subunidad del receptor NMDA 2A
NR2B	Subunidad del receptor NMDA 2B
NT-3	Neurotrofina 3
NT-4/5	Neurotrofina 4/5
NT-6	Neurotrofina 6
NT-7	Neurotrofina 7
PBS	Amortiguador de fosfatos
PI3-K	Fosfatidilinositol 3 cinasa
PKA	Proteína cinasa dependiente de adenosinmonofosfato cíclico
PKC	Proteína cinasa dependiente de calcio
PLC _γ	Fosfolipasa C _γ
PPSE	Potenciales postsinápticoexcitatorios

proBDNF	Proteína inmadura de BDNF
SN	Sistema nervioso
SNC	Sistema nervioso central
Thr	Treonina
Trk	Receptor de tropomiosinacina
TrkA	Receptor de tropomiosinacina tipo A
TrkB	Receptor de tropomiosinacina tipo B
TrkC	Receptor de tropomiosinacina tipo C
Tyr	Tirosina
VEH	Vehículo

1. RESUMEN

La metaplasticidad es un proceso homeostático mediante el cual la capacidad de las sinapsis para expresar cambios plásticos está sujeta a variaciones dependiendo de la experiencia previa. En particular, el entrenamiento en tareas conductuales modifica la posibilidad de inducir potenciación de largo plazo (LTP). Recientemente, hemos reportado que el entrenamiento previo en el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) impide la subsecuente inducción de LTP generada por estimulación de alta frecuencia en la proyección que va del núcleo basolateral amigdalino (BLA) a la corteza insular (CI). Un regulador clave de las modificaciones sinápticas de larga duración relacionadas con el aprendizaje y el mantenimiento de la memoria es el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Estudios previos en nuestro laboratorio han demostrado que la microinfusión aguda de BDNF en la CI induce una potenciación duradera de la eficiencia sináptica en la proyección BLA-CI. De tal manera, el objetivo del presente trabajo fue analizar si el entrenamiento en el CAS modifica la capacidad de inducir subsecuente LTP inducida por BDNF en la proyección BLA-CI *in vivo*. Por lo tanto, ratas entrenadas en el CAS recibieron unamicroinfusión intracortical de BDNF con el fin de inducir LTP 48 h posteriores a la prueba de aversión. Nuestros resultados indican que el entrenamiento en el CAS impide la inducción de LTP generada por BDNF en la CI, sugiriendo que los cambios metaplásticos en la CI contribuyen a la formación y persistencia de los recuerdos aversivos.

2. INTRODUCCIÓN

Los organismos se encuentran expuestos a constantes cambios originados por el ambiente que les rodea, y la memoria es una de las estrategias que poseen para hacer frente al entorno variable y sobrevivir. La expresión de conductas que les permitan lidiar con el cambio dependerá de la información que hayan adquirido previamente gracias a la experiencia. Ejemplo de ello es la capacidad de las células del sistema nervioso (SN) para adaptarse al cambio, modificando su estructura y funcionamiento en respuesta a la interacción del organismo con el entorno variable. Esta propiedad de las células nerviosas es conocida con el nombre de plasticidad sináptica, la cual se define como los cambios en las propiedades sinápticas dependientes de la actividad y es considerada como la base de fenómenos adaptativos como el aprendizaje y la memoria (Milner et al., 1998; Bear et al., 2001; Citri et al., 2008).

En 1984 Ramón y Cajal propuso que la memoria podría almacenarse a través de cambios anatómicos producidos por modificaciones en la fortaleza de la transmisión sináptica; más tarde Donald Hebb propuso que las conexiones sinápticas pueden fortalecerse cuando las neuronas presinápticas y postsinápticas son activadas simultáneamente (citado por Kandel, 2001).

Las modificaciones en la eficiencia sináptica por periodos prolongados y las modificaciones estructurales dependientes de la actividad, tienen especial relevancia para el estudio del aprendizaje y la memoria debido a que representan las bases celulares y moleculares de dichos fenómenos (Malenka et al., 2004). Un trazo de memoria es formado a partir de cambios en la transmisión sináptica que permiten el fortalecimiento de las redes neuronales, ejemplo de ello es el modelo celular ampliamente relacionado con los procesos que subyacen a la retención de información en el cerebro por tiempo prolongado, conocido como potenciación de largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés)(Malenka et al., 2004). La LTP fue inicialmente descrita en el hipocampo, sin embargo, a pesar de que el estudio de este fenómeno en la neocorteza ha representado una complejidad mayor, existen diversos trabajos que respaldan su ocurrencia en dicha región (Komatsu et al., 1988; Hirsch et al., 1990; Lee et al., 1991; Rioult-Pedotti et al., 2000; Artola, 2002; Ying et al., 2002; Escobar et al., 2003; Rex et al., 2007). En 1998, Escobar y colaboradores lograron inducir potenciación de largo plazo en la corteza insular (CI), específicamente en la vía que va del núcleo basolateral de la amígdala (Bla) a la región agranular de la CI en la neocorteza (Escobar et al., 1998a). Esta vía se encuentra involucrada en la adquisición y almacenamiento de tareas aversivas como el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) un paradigma ampliamente utilizado para el estudio de procesos de aprendizaje y memoria que implica supervivencia y adaptación de las especies.

A pesar de los constantes cambios que experimentan los circuitos neuronales, el SN posee la capacidad de mantener la actividad neuronal en un rango funcional a través de un mecanismo de retroalimentación negativa que es capaz de mantener los cambios en la transmisión sináptica sin que el sistema sufra un estado de saturación o quiescencia. Tal mecanismo es conocido como plasticidad homeostática, y es un tipo de plasticidad no hebbiana (Nelson y Turrigiano, 2008).

Actualmente se sabe que la historia de actividad de las neuronas modula las futuras respuestas a determinados estímulos para adaptarse a los requerimientos del sistema (Nelson y Turrigiano, 2008). En un estudio reciente llevado a cabo en nuestro

laboratorio se observó que el entrenamiento previo en el CAS impide la inducción de potenciación de largo plazo, generada por estimulación de alta frecuencia en la vía Bla-CI (Rodríguez-Durán et al., 2011).

Investigaciones acerca de los mecanismos moleculares que permiten el aprendizaje y la memoria han revelado que entre los diversos actores que participan en la modulación del fortalecimiento sináptico, un grupo de proteínas denominadas neurotrofinas poseen la capacidad de inducir modificaciones de larga duración (Je et al., 2006; Lu et al., 2005; Messaoudi et al., 2002). En el sistema nervioso las neurotrofinas se encuentran expresadas predominantemente en la neocorteza y el hipocampo (Kolarow et al., 2007; Lu et al., 2005). Actualmente se sabe que sus niveles de secreción son regulados por la actividad sináptica y que ejercen sus acciones en la eficiencia de la comunicación de las sinapsis tanto en las células presinápticas como en las postsinápticas (Kolarow et al., 2007; Lu et al., 2005). La investigación realizada durante las dos décadas pasadas ha revelado que las neurotrofinas regulan casi todos los aspectos del desarrollo de circuitos neuronales y su funcionamiento, incluyendo la proliferación y diferenciación, el crecimiento axonal y dendrítico, así como la plasticidad sináptica (Park et al., 2013). Estudios previos en nuestro laboratorio reportan que la infusión aguda del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF por sus siglas en inglés) en la corteza insular induce un fenómeno similar a la LTP en la proyección Bla-CI, en ausencia de estimulación de alta frecuencia (Escobar et al., 2003).

Si el CAS es capaz de generar cambios plásticos en la proyección Bla-CI similares a los inducidos por la LTP, de tal forma que se modifica el umbral para la generación de subsecuente plasticidad sináptica en la vía, manteniéndola en un estado homeostático, ¿qué efecto tendría dicha tarea conductual sobre la modulación del fortalecimiento sináptico generada por BDNF? El presente trabajo tuvo como objetivo responder a esta pregunta analizando la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de LTP generada por la microinfusión aguda de BDNF en la CI de ratas adultas *in vivo*.

3. ANTECEDENTES

El estudio de las bases celulares y moleculares que subyacen al aprendizaje y la memoria ha sido uno de los objetivos de la neurociencia cognitiva durante las últimas

décadas, gracias a esto se han logrado dilucidar algunos de los mecanismos que participan en el fortalecimiento de las conexiones sinápticas y, en consecuencia, en el almacenamiento de información (Lynch, 2004).

El aprendizaje se puede definir como el proceso mediante el cual un organismo adquiere información, y la memoria como el proceso que permite almacenar esta información. Este proceso se puede dividir en las siguientes fases: adquisición, consolidación, evocación y extinción. Por su duración se puede dividir en corto y largo plazo, mientras que por el tipo de información que se almacena, la memoria de largo plazo se puede dividir en declarativa o explícita (memoria de hechos y eventos) y no declarativa o implícita (memoria de procedimiento) (Bear et al., 2001; Milner et al., 1998).

Evidencias experimentales indican que el mantenimiento de trazos de memoria durante periodos prolongados puede incluir la persistente actividad de algunas moléculas, promoviendo la formación y mantenimiento de la memoria de largo plazo (Lisman et al., 2001; Shema et al., 2007; Bekinschtein et al., 2007; Bekinschtein et al., 2008; Shema et al., 2009; Sanhueza et al., 2013).

3.1. La potenciación de largo plazo (LTP)

Una de las características más notables del cerebro es su capacidad para almacenar grandes cantidades de información. La memoria se ve reflejada en la capacidad de las neuronas para modular las respuestas evocadas por un estímulo y para reactivar una respuesta en ausencia del estímulo que lo provoca (Eichenbaum, 1996).

A principios del siglo pasado Santiago Ramón y Cajal propuso que los cambios en la fuerza de las conexiones sinápticas son un mecanismo que subyace al aprendizaje y la memoria, idea que en 1949 Donald Hebb integró en su modelo sináptico que postula que cuando “el axón de una célula A está suficientemente cerca para excitar a una célula B y repetida o persistentemente toma parte de su activación, algún cambio metabólico o estructural tiene lugar en alguna de las dos células, de modo que la eficacia en A para activar a B incrementa” (Hebb, 1949) (En la figura 1 se muestra una representación del principio de Hebb en una sinapsisglutamatérgica). Sin embargo, no fue hasta el descubrimiento de la potenciación de largo plazo (Bliss et al., 1973; Lømo, 1966) que existió evidencia experimental que apoyara tales propuestas.

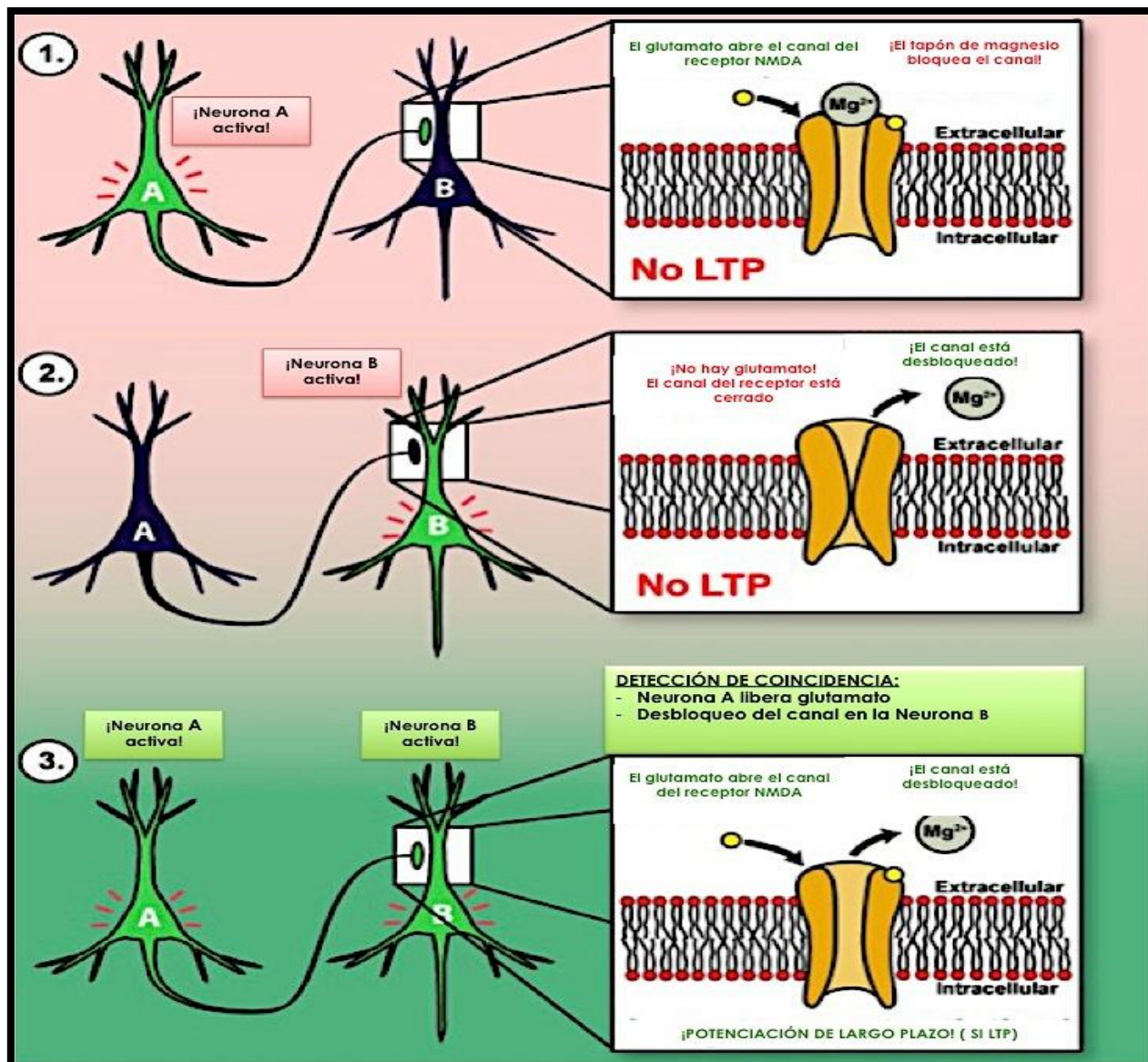


Figura 1. Principio de Hebb. Esquema representativo del principio de Hebb en una sinapsis glutamatérgica. En el esquema se representan un par de neuronas activas (verde) o inactivas (negro). En los dos primeros incisos se observa que la activación no coincidente de las neuronas no permite la generación de un cambio en la eficiencia sináptica (en este caso LTP). En el inciso tres se muestra que la activación coincidente de las neuronas permite un cambio en la eficiencia sináptica (la eficiencia de A para activar a B incrementa). LTP: Potenciación de largo plazo, Mg^{2+} : Magnesio, NMDA: N-metil-D-aspartato. (Modificado de Jones, 2013).

A finales de los años 1960 y principios de la década de los 1970's, Bliss y Lømo realizaron una serie de experimentos describiendo que trenes breves de estimulación de alta frecuencia aplicados en la proyección que va de la vía perforante al giro dentado en el hipocampo de conejos, causaban un incremento en la fortaleza de las conexiones sinápticas (Lømo, 1966; Bliss et al., 1973; Bliss et al., 1973). Dicho fenómeno se conoce como potenciación de largo plazo (figura 2), el cual es definido en la actualidad como un incremento de larga duración en la eficiencia sináptica

dependiente de la actividad (Abraham, 2008). Hoy en día se conoce que es posible inducir LTP en prácticamente todas las áreas del SN (Abraham, 2008; Citri et al., 2008), además de presentarse en diversas especies de animales, como en conejos, gatos, ratas, ratones, invertebrados e incluso en humanos (Roberts et al., 2003; Kitagawa et al., 2004; Muller et al., 2007; Abraham, 2008; Citri et al., 2008; Dringenberg et al., 2008; Otsubo et al., 2008).

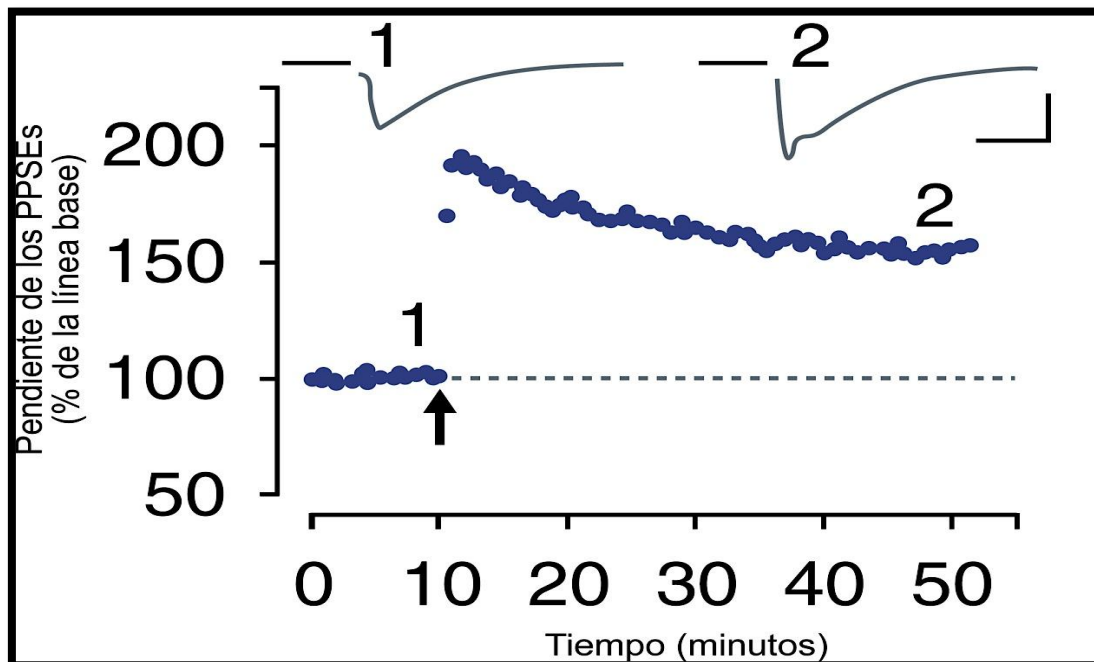


Figura 2. Ejemplo de potenciación de largo plazo. La gráfica muestra la pendiente de los potenciales post-sinápticos excitatorios (PPSE) del área CA1 hipocampal antes (1) y después (2) de la estimulación de alta frecuencia (flecha: 100 Hz/1s) en el área CA3 del hipocampo. Los trazos en la parte superior muestran un incremento en la amplitud de los PPSEs después de la aplicación de los trenes (escala: 0.5 mV, 10ms; modificado de Citriet al., 2008).

Inicialmente la LTP fue reportada en el hipocampo, desde entonces se ha encontrado que dicho fenómeno no es particular de una vía ni tampoco de una sola área del sistema nervioso central (SNC); por ejemplo, en el hipocampo además del patrón perforante (Bliss et al., 1973) el fenómeno se ha reportado en las colaterales de Schaffer (Wang et al., 1996; Abraham et al., 1997) y en las fibras musgosas (Derrik et al., 1991; Nicollet et al., 1995; Escobar et al., 1997). Entre las áreas no hipocampales donde se ha reportado la expresión de la LTP se encuentran las siguientes vías: Tálamo auditivo-amígdala (Clugnet et al., 1990), fibras paralelas-neuronas de Purkinje en el cerebelo (Losi et al., 2002), cortico-estriatal (Calabresi et al., 2000), y varias

regiones de la neocorteza (Artola et al., 1990; Tsumoto, 1992; Bear et al., 1993; Escobar et al., 1998a).

Se considera que la LTP es el reflejo de los procesos celulares que ocurren durante la transmisión sináptica normal y que subyace a los cambios sinápticos durante la formación de la memoria. Es claro que la LTP puede presentarse en muchas sinapsis del sistema nervioso. Mientras que numerosas formas de LTP involucran la activación de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), estos no siempre son requeridos (Escobar et al., 1997). Además, los mecanismos implicados en la inducción de la LTP difieren en función de la estructura cerebral estimulada. Por lo tanto, se considera que la potenciación de largo plazo de la transmisión sináptica excitatoria es una propiedad intrínseca de las redes neuronales, que utilizan distintos mecanismos de inducción y posiblemente de expresión en diferentes poblaciones sinápticas (Malenka y Bear, 2004; Escobar et al., 2007).

3.1.1. Características generales de la LTP

Además de su persistencia en el tiempo, la LTP posee características que la convierten en el principal fenómeno para explicar los eventos que a nivel celular y molecular subyacen a la plasticidad sináptica relacionada con la memoria. Estas características son: la especificidad, la cooperatividad y la asociatividad (Bailey et al., 2000) (Figura 3). La *especificidad* se refiere a que únicamente aquellas fibras que fueron activadas por el estímulo de alta frecuencia van a presentar modificaciones en la respuesta sináptica. La *cooperatividad* se manifiesta por un fuerte requerimiento en la actividad simultánea de las fibras presinápticas, de tal forma que se logre el estímulo necesario para generar la LTP. Finalmente, la *asociatividad* se presenta cuando la actividad de una aferencia lo suficientemente fuerte como para presentar LTP, puede ayudar a generar tal fenómeno en sinapsis débiles (incapaces de generar LTP por si mismas), siempre y cuando la actividad de las dos aferencias ocurra simultáneamente (Malenka et al., 1993; Malenka, 2003). La relación de este fenómeno con el procesamiento de información ha sido extensamente estudiada en el hipocampo y otras regiones del sistema nervioso central (SNC). Algunos de los puntos que hacen pensar a los investigadores que la LTP constituye el mecanismo que subyace a los procesos de aprendizaje y memoria son: que la LTP opera en las redes de neuronas involucradas en los procesos de aprendizaje y memoria (hipocampo, amígdala, neocorteza etc.), la duración prolongada

del fenómeno así como su funcionamiento acorde al postulado de Hebb (Martínez et al., 1996).

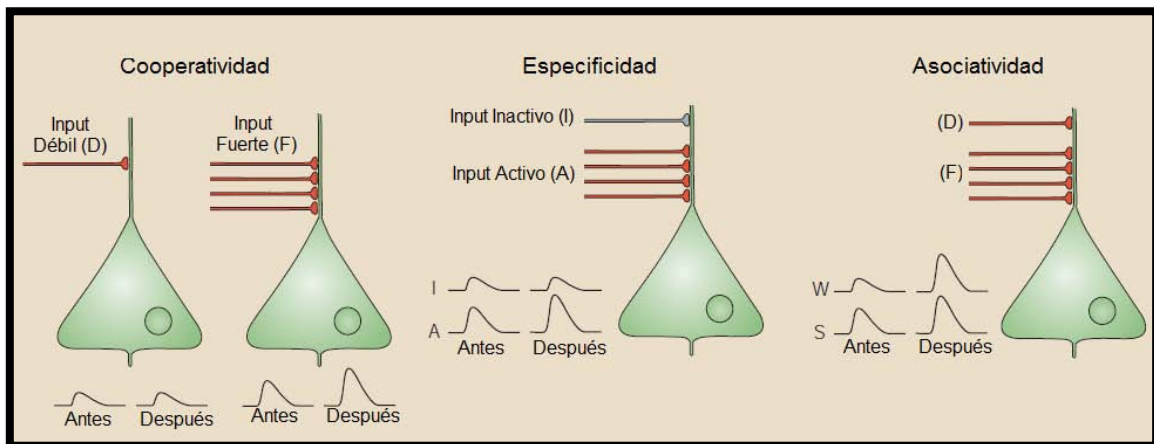


Figura 3. Características de la potenciación de largo plazo. Esquema representativo de las características de la LTP. La *cooperatividad*, característica de la LTP que se manifiesta por un fuerte requerimiento en la actividad simultánea de las fibras presinápticas, de tal forma que se logre el estímulo necesario para generar la potenciación (en rojo se representan las fibras aferentes: una fibra indica una estimulación débil, mientras que cuatro fibras significan una estimulación fuerte). La *especificidad*, en la que únicamente aquellas fibras que fueron activadas por el estímulo de alta frecuencia van a presentar modificaciones en la respuesta sináptica (en rojo se muestran las fibras aferentes que fueron activadas específicamente tras la estimulación y en gris, las fibras de una vía paralela que no fue estimulada). *Asociatividad*, la cual se presenta cuando la actividad de una aferencia lo suficientemente fuerte como para inducir LTP, puede ayudar a generar tal fenómeno en sinapsis débiles (incapaces de generar LTP por sí mismas), siempre y cuando la actividad de las dos aferencias ocurra simultáneamente (en rojo fibras aferentes capaces de generar LTP). Las inflexiones representan un potencial postsináptico excitatorio antes y después de una estimulación (Modificado de Malenka, 2003).

3.1.2. Mecanismos moleculares de la LTP

Entre los mecanismos moleculares que subyacen a la LTP se ha descrito la participación del neurotransmisor excitador glutamato. El glutamato activa a los receptores AMPA (ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico), dando lugar a la entrada de sodio al interior de la célula, contribuyendo de esta forma a la despolarización de la neurona postsináptica. Por su parte, los receptores ionotrópicos NMDA también son activados por glutamato, pero éstos poseen un bloqueo de magnesio en el poro del canal, el cual es liberado cuando la membrana es despolarizada. Esto otorga a los receptores NMDA la propiedad de funcionar como detectores asociativos, ya que se activan sólo cuando coinciden la actividad de la célula presináptica y la despolarización de la membrana en la célula

postsináptica (Malenka y Bear, 2004). Los receptores NMDA tienen la característica de que al ser activados además de sodio, permiten la entrada de calcio al interior de la célula (Jahret et al., 1987; Ascheret et al., 1988). El incremento en las concentraciones de calcio desencadenado por la inducción de LTP conlleva a la activación de la proteína citosólica llamada calmodulina, que funciona como una señal al activar distintas vías de traducción en el interior de la célula, haciendo posible el mantenimiento del incremento en la eficiencia sináptica por tiempos prolongados (Malenka y Bear, 2004). Se ha observado que un mecanismo importante en la generación de la LTP, es la activación de varias proteínas cinasas (las cuales se caracterizan por transferir un grupo fosfato a sus sustratos). Entre estas cinasas destaca la actividad de la calcio calmodulinacina de tipo II (CaMK-II), la cual fosforila a los receptores AMPA y NMDA (Sanhueza et al., 2013). Destaca asimismo la actividad de las tirosinas cinasas (Trk). Tanto la CaMK-II como las Trk, se han visto involucradas con la producción y activación de mensajeros retrógrados, los cuales permiten la liberación de más neurotransmisor en la presinapsis (figura 4) (Malenka y Bear, 2004).

Entre los mecanismos que se han visto involucrados en el mantenimiento de la LTP por períodos prolongados se encuentran la síntesis de proteínas así como, las modificaciones estructurales que dan origen a nuevos contactos sinápticos (Lamprecht y LeDoux, 2004). Una de las cascadas involucradas en la síntesis de proteínas es la que tiene lugar tras la activación de la proteína cinasa A (PKA). La unidad catalítica de esta proteína transloca al núcleo y una vez en el interior activa al factor de transcripción CREB (proteína de unión al elemento responsivo al AMPc), que regula la transcripción de genes. La LTP tardía se ha visto involucrada en la producción de proteínas de adhesión celular, así como la polimerización de actina, responsables de las modificaciones estructurales y formación de nuevos contactos sinápticos (Kelleher et al., 2004). Asimismo, la proteína cinasa C (PKC), la cual es activada por calcio y diacilglicerol, ha sido involucrada en los fenómenos de plasticidad sináptica como la LTP (Taattola, 2004; Yang et al., 2004; Moriguchi et al., 2006). Uno de los sustratos de esta cinasa es la subunidad del receptor AMPA GluR1, la cual al ser fosforilada promueve la incorporación de dicha subunidad a la sinapsis (Boehm et al., 2006). Por otro lado, se ha demostrado que el mantenimiento de la LTP durante períodos mayores a una hora es dependiente de síntesis de proteínas. Si se bloquea tanto la transcripción de ARN mensajero (ARNm) como la traducción de nuevas proteínas, la LTP decae después de una hora. Sin embargo, si el bloqueo se realiza una o más

horas después de la inducción de potenciación, la LTP permanece inalterada, lo cual pone de manifiesto que la síntesis de nuevas proteínas es necesaria para la persistencia de la LTP en períodos determinados (Wells y Fallon, 2000). Es pertinente mencionar que la síntesis de proteínas no sólo se lleva a cabo en los ribosomas que se encuentran en la proximidad del núcleo (en el retículo endoplásmico rugoso), sino que además tiene lugar en las dendritas que cuentan con la maquinaria necesaria para la traducción de nuevas proteínas (Engert y Bonhoeffer, 1999; Toni et al., 1999; Wells y Fallon, 2000; Malenka y Bear, 2004; Citri y Malenka, 2008). Estas nuevas proteínas mantienen en un nivel óptimo la actividad molecular necesaria para sostener los cambios en la eficiencia sináptica, además de promover cambios morfológicos en las espinas dendríticas (Engert y Bonhoeffer, 1999; Toni et al., 1999)

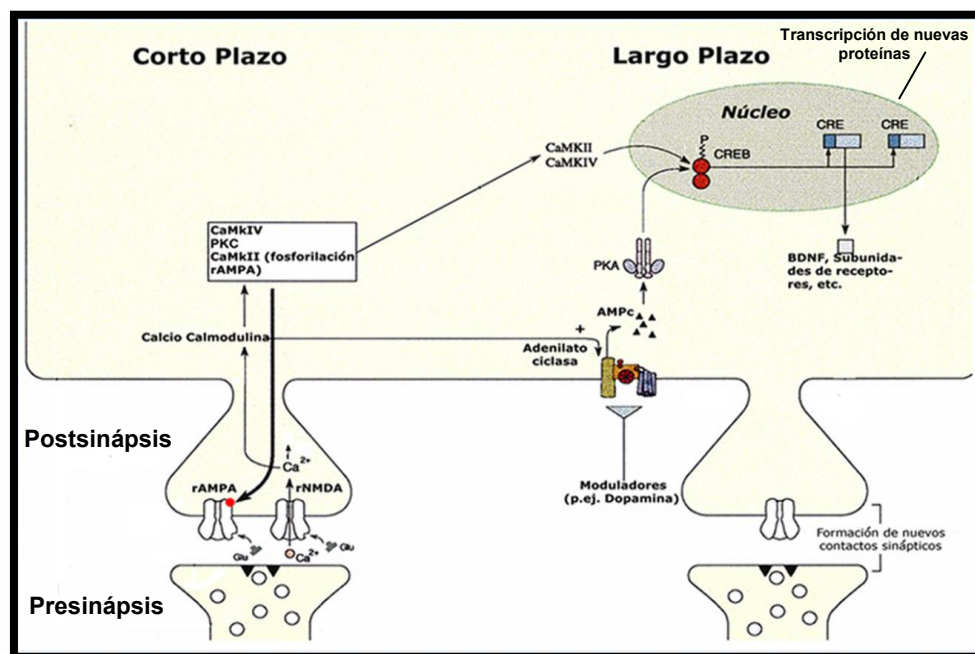


Figura 4. Mecanismos moleculares que subyacen a la LTP. Se distinguen dos fases: la fase de corto plazo o fase temprana de la LTP, que requiere de la activación de proteínas existentes que favorecen la comunicación sináptica haciéndola más eficiente (por ejemplo CaMKIV, PKC, CaMKII) y la fase tardía de la LTP en la cual, los elementos fundamentales son la síntesis proteica (por ejemplo BDNF y subunidades de receptores) y la formación de nuevos contactos sinápticos. rAMPA: receptor a glutamato ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico; rNMDA: receptor a glutamato N-metil-D-aspartato; PKC: proteína cinasa dependiente de calcio; CaMKII: proteína calcio calmodulinacinasa II; AMPc: adenosinmonofosfato cíclico; PKA: proteína cinasa dependiente de AMP cíclico; CaMKIV: proteína calcio calmodulinacinasa IV; CREB: factor de transcripción (proteína de unión al elemento responsivo de AMP cíclico); CRE: elementos responsivos al AMP cíclico (Modificado de Milner et al., 1998).

En estudios recientes se ha remarcado la importancia de los factores neurotróficos en la LTP. Por ejemplo, se ha observado que la expresión de los genes que codifican los factores de crecimiento BDNF, NGF y NT-3 aumenta tras la inducción

de la LTP (Bramham et al. 1996; Morimoto et al. 1998). El aumento de la transcripción de genes que codifican factores de crecimiento, así como moléculas de adhesión celular podría constituir la conexión entre el incremento en la eficacia sináptica y las modificaciones estructurales de los sitios sinápticos que se han observado tras la inducción de LTP (De Roo et al. 2008).

3.1.3. LTP en la neocorteza

La LTP fue inicialmente descrita en el hipocampo, una estructura implicada en diversas formas de aprendizaje y memoria. Sin embargo, la neocorteza es considerada la región en la que se almacena la memoria de largo plazo (Bear et al., 2001). Adicionalmente, se considera que dicho fenómeno es un factor clave para el desarrollo dependiente de la actividad en los circuitos neocorticales (An et al., 2012), por lo que el estudio de la LTP en la neocorteza resulta de gran interés para el campo de la neurociencia cognitiva. No obstante, los trabajos encaminados al estudio de la LTP en dicha región, han enfrentado una complejidad mayor. Los trabajos realizados en este área han utilizado una extensa variedad de protocolos de estimulación, que pueden incluir una reducción de la inhibición modulada por el receptor al ácido γ -aminobutírico (GABA) (Kanter y Haberly, 1993), o la utilización de inyecciones de corriente en el cuerpo celular, para generar potenciales de acción en reversa que permitan la depolarización postsináptica necesaria para inducir LTP (Feldman, 2012). Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la LTP *in vivo* en la corteza somatosensorial del ratón se puede generar en ausencia de dichas espigas somáticas, requiriendo en lugar de ello, la generación de depolarizaciones dendríticas locales de larga duración (Gambino et al., 2014). Estas evidencias nos muestran un panorama general de la gran complejidad que han debido enfrentar diversos investigadores para la inducción de la LTP en la neocorteza. Otro ejemplo de tal complejidad es el caso de la corteza visual del gato, en la que parece existir una correlación entre la edad y la capacidad de inducir LTP (Bear et al., 1993; Kirkwood et al., 1995), además de la necesidad de ampliar el rango de frecuencia y el número de estimulaciones tetánicas para producir el fenómeno. Entre las áreas neocorticales que se ha reportado que presentan el fenómeno de LTP se encuentran la corteza primaria visual del gato (Komatsu et al., 1988), de la rata (Artola et al., 1990) y del ratón (Jiang et al., 2007), la corteza auditiva del ratón (Chun et al., 2013), la corteza de barriles en la rata (An et al., 2012; Barros-

Zulaica et al., 2014), la corteza somatosensorial del gato (Lee et al., 1991), de la rata (Feldman, 2000) y del ratón (Gambino et al., 2014), la corteza cingulada anterior del ratón (Chen et al., 2014), la corteza prefrontal de la rata (HirschyCrepel, 1990; Shen y Kalivas, 2013) y del ratón (Ruan et al., 2014), la corteza prefrontalinfralímbilca del ratón (Marek et al., 2011), la corteza piriforme anterior de la rata (Morrison et al., 2013), la corteza entorrinal de la rata (Quinlan et al., 2004), la corteza somatosensorial y motora de rata (Rioult-Pedotti et al., 2000), la corteza motora en el humano, a través de estimulación magnética transcraneal (Naro et al., 2014) y la corteza insular de la rata, específicamente en la vía que va del núcleo basolateral amigdalino a la zona agranular de la corteza insular (Escobar et al., 1998a; Jones et al., 1999).

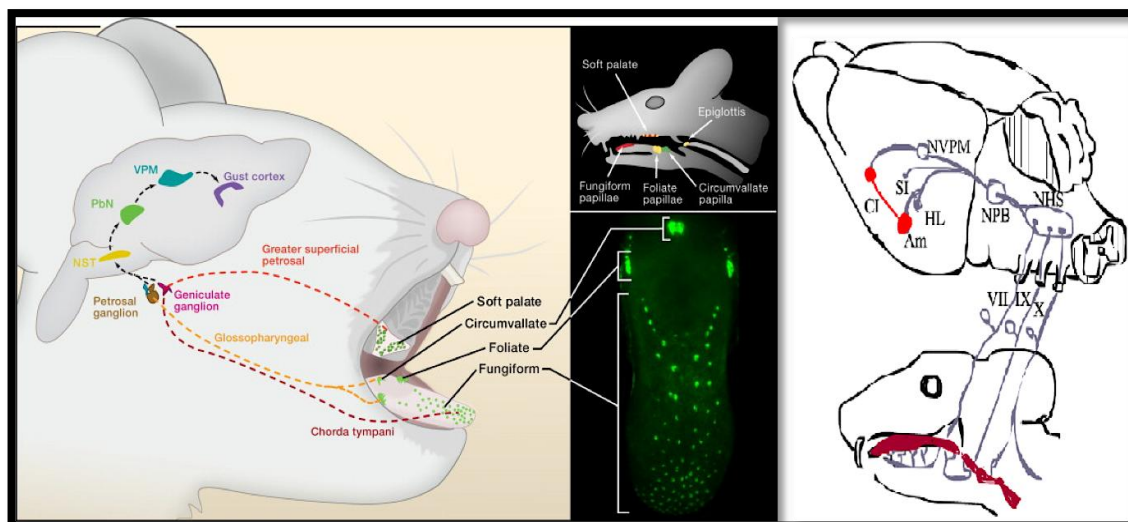
3.2. La corteza insular y la vía gustativa

La CI es el relevo final de la vía gustativa. Los vertebrados detectamos los sabores por medio de la activación de células quimiorreceptoras las cuales responden a moléculas o iones que están disueltos en la saliva. Estas células, junto con células basales y de soporte forman las yemas gustativas. Las yemas gustativas son consideradas los órganos sensoriales del sentido del gusto. Tanto en el humano como en la rata, la ubicación de las yemas gustativas dentro de la cavidad oral se observa en pequeñas protuberancias del epitelio de la lengua denominadas papilas. Por su forma, se pueden distinguir tres tipos de papilas gustativas distribuidas en la lengua: circunvaladas, foliadas y fungiformes. Es relevante mencionar que tanto el paladar como la faringe, epiglotis y parte superior del esófago presentan yemas gustativas pero solo las yemas que se encuentran en la lengua están agrupadas en papilas (figura 5) (Bear, 1996).

Los pares craneales VII (facial), IX (glossofaríngeo), y X (vago) llevan información de las yemas gustativas (figura 5). El nervio facial lleva información de las papilas fungiformes que se encuentran en la parte anterior de la lengua, así como de las yemas gustativas localizadas en el paladar y en el conducto nasoincisor. El nervio glossofaríngeo lleva información de las papilas foliadas y circunvaladas que se encuentran en la parte posterior de la lengua, mientras que el nervio vago lleva información de las yemas gustativas de la epiglotis laringe y esófago. Por otra parte, el nervio trigémino inerva la periferia de las yemas gustativas y transmite información somatosensorial, textura y temperatura de los alimentos (Reutter et al., 1993). Los tres nervios, facial, glossofaríngeo y vago, hacen sinapsis en el núcleo del tracto solitario.

Después de dicho relevo las diferencias entre el sistema gustativo de los humanos y de las ratas se hacen evidentes. En las ratas, el segundo relevo de la vía gustativa se encuentra en el núcleo parabraqueal del puente, en lo que se ha denominado como área gustativa del puente (Norgren et al, 1971). Una vez ahí se reconocen dos rutas: la primera se proyecta hacia estructuras ventrales del cerebro basal como la amígdala, la zona ventral del hipocampo, y la sustancia innominada mientras que la segunda se proyecta hacia el complejo ventrobasal del tálamo, el cual se comunica con la Clagranular(Gerfen et al., 1979). En el humano las fibras eferentes provenientes del núcleo del tracto solitario se proyectan rostralmente hacia el núcleo parabraqueal del puente, pero no hacen sinapsis hasta el núcleo ventroposteromedial del tálamo en su división parvocelular(Norgren et al., 1973), que a su vez envía sus eferencias a la ínsula anterior y al operculum frontal, por lo cual estas dos zonas son consideradas como la corteza gustativa primaria en los humanos (Pritchard et al., 1986; Kinomura et al., 1994).

Figura 5. La anatomía del sabor y la vía gustativa en la rata. En la figura de la izquierda se observa la distribución de las tres clases de papilas gustativas (circunvaladas, foliadas y fungiformes), señaladas también en el panel inferior derecho en la imagen de fluorescencia. Las papilas gustativas en la lengua y el paladar son inervadas por tres nervios aferentes: la cuerda del tímpano (chordatympani), el petroso mayor superficial (greater superficial



petrosal) y el glosofaríngeo (glossopharyngeal), en donde la información gustativa es conducida hasta su relevo final en la corteza insular o gustativa (gustcortex). El panel derecho muestra un esquema de la vía gustativa de la rata. (Abreviaturas: VII, nervio facial; IX, nervio glosofaríngeo; X, nervio vago; NHS, núcleo del tracto solitario; NPB, núcleo parabraqueal del puente; NVPM, núcleo ventroposteromedial del tálamo; CI, corteza insular; SI, sustancia innominada; HL, hipotálamo lateral; Am amígdala) (Yarmolinsky et al., 2009; Modificado de Bear et al., 2001)

Es importante señalar que el núcleo del tracto solitario recibe aferencias del área hepática del vago, así como señales del área postrema a través del torrente sanguíneo, estas vías son importantes, ya que transmiten información relacionada con irritación por

intoxicación gástrica a la CI (Yamamoto et al., 1992). Por ejemplo, un estudio electrofisiológico demostró la activación de la CI cinco minutos después de la inyección de LiCl (Weiner et al., 1994). También es importante considerar las conexiones recíprocas entre la CI y la amígdala, esta última relacionada con tareas aversivas como el condicionamiento al miedo y la prevención pasiva, así como con respuestas emocionales como el miedo y la agresión (McGaugh et al., 1990; LeDoux, 1993).

El CAS es una tarea de aprendizaje que requiere la formación de un trazo de memoria aversiva mediante la asociación de dos estímulos que son relacionados en la CI. En primer lugar se encuentra el estímulo gustativo, el cual activa la vía gustativa hasta su relevo final en la CI para la formación del trazo de memoria gustativa de tipo "seguro". En segundo lugar se encuentra el estímulo aversivo, el cual activa a la CI a través de la amígdala para la formación de un trazo de memoria gustativa de tipo "aversivo" (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005). Para la formación del trazo de memoria gustativa de tipo seguro, se ha propuesto que el estímulo gustativo incrementa los niveles de acetilcolina en la CI, proveniente de la conexión de esta corteza con el núcleo *basalis magnocelularis* (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005). La acetilcolina activa a receptores de tipo muscarínicos en la CI, los cuales promueven la activación de la PKC, la cual tiene injerencia en la modulación de los receptores NMDA y en la activación de otras cinasas como ERK (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005). Por otro lado, para la formación del trazo de memoria gustativa de tipo aversivo, se ha observado que el malestar gástrico incrementa los niveles de glutamato en la CI debido a la activación de la vía amígdalo-cortical, lo cual promueve la entrada de calcio al interior de las neuronas en dicha corteza, iniciando cambios plásticos dependientes de la actividad (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005). Actualmente, se considera que la conjunción de los mecanismos del trazo gustativo y del trazo aversivo en la CI activan diferentes proteínas relacionadas con la plasticidad como la misma PKC o la PKA, que son parte de una cadena molecular que culmina con la activación de genes de expresión temprana como CREB, los cuales promueven la síntesis de nuevas proteínas relacionadas con el mantenimiento de la memoria del CAS (Yasoshima et al., 2000; Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005). De manera interesante, diversas proteínas que se encuentran relacionadas con la formación y el mantenimiento del CAS se encuentran también relacionadas con la expresión de la LTP en la CI, lo

cual sugiere una coincidencia de mecanismos entre estos dos fenómenos (Escobar et al., 1998a; Escobar y Bermudez-Rattoni, 2000; Escobar et al., 2002)

3.3. El condicionamiento de aversión a los sabores (CAS)

La supervivencia de un organismo está basada entre otras cosas en la capacidad de aprender y recordar que un alimento ingerido fue seguido de un malestar, anticipando de esta forma el potencial dañino de cualquier alimento que tenga atributos similares y evitando su consumo. John García describió por primera vez que las ratas desarrollan aversión a soluciones con sabor dulce cuando éstas son seguidas por la aplicación de rayos gamma (García et al., 1955). En posteriores experimentos del mismo grupo de investigación, el estímulo aversivo utilizado fue el cloruro de litio (LiCl). En este sentido, García y Koelling en 1966 demostraron que una solución con sabor se asocia más fácilmente a la inducción de náusea que a la aplicación de choques eléctricos en las patas, lo cual nos muestra que en este condicionamiento, donde el estímulo condicionado es el sabor, es importante que el estímulo aversivo sea de tipo visceral (García y Koelling, 1966). A esta conducta de rechazo basada en el aprendizaje se le llamó condicionamiento de aversión a los sabores o CAS (figura 6). El CAS es un tipo de condicionamiento clásico, donde el sabor sirve como estímulo condicionado y el malestar gástrico como estímulo incondicionado, de modo que un estímulo gustativo adquiere la capacidad de inducir una respuesta condicionada. Los animales pueden aprender el CAS si la solución con sabor es ingerida espontáneamente, pero también presentan el aprendizaje de la tarea cuando el estímulo aversivo es inyectado por vía intraperitoneal o intravenosa (Bradley et al., 1971; Bures et al., 1989).

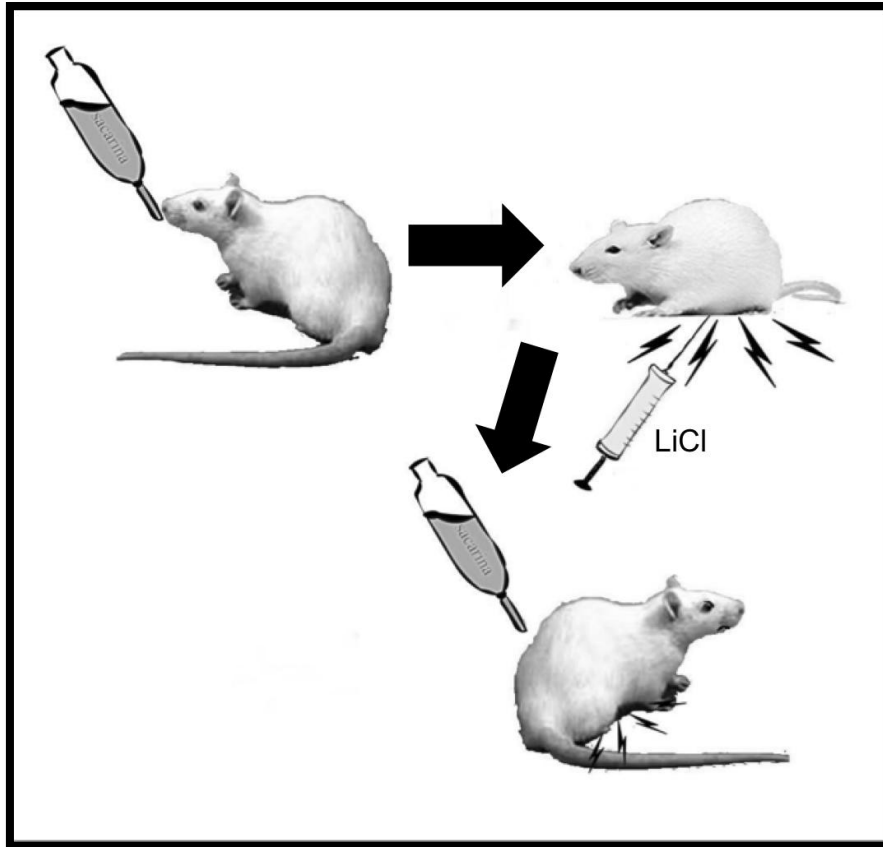


Figura 6. Condicionamiento de aversión a los sabores. Cuando un sabor novedoso es asociado con un malestar gástrico (inyección de LiCl) da como resultado que en las siguientes presentaciones del sabor, éste evoque un malestar gástrico. Esto causa que el animal muestre aversión a dicho sabor, evitando su consumo.

Los principios generales del condicionamiento de aversión a los sabores son:

1. Si un animal consume un alimento con sabor y subsecuentemente sufre malestar gástrico, en los siguientes encuentros con ese sabor el animal evitará o disminuirá drásticamente su consumo (Garcia et al., 1985).

2. La fuerza de la aversión aprendida está directamente relacionada con la intensidad del sabor y del malestar, y está inversamente relacionada al intervalo entre la presentación del sabor y la inducción de malestar. Este intervalo puede durar horas, a diferencia de otros condicionamientos, en los cuales es necesario que el intervalo entre el estímulo condicionado y la respuesta incondicionada sea de segundos (Domjan, 1985).

3. Los estímulos gustativos se asocian más fácilmente a estímulos gástricos (Garcia y Koelling, 1966).

Numerosos experimentos han demostrado que lesiones bilaterales de la CI deterioran el aprendizaje y la evocación del CAS (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-

Rattoni et al., 2005), sin embargo, estas lesiones en la CI no parecen afectar la percepción del sabor, ya que los animales con lesión en la CI pueden discriminar entre diferentes concentraciones de sacarosa y NaCl (Lasiter et al., 1985). Estudios electrofisiológicos mediante estimulación gustativa y evocación de señales de la lengua a la corteza insular sugieren que los estímulos gustativos están confinados a la CI (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005; Bernstein et al., 2007). A este respecto, estudios electrofisiológicos donde se evocan señales en la corteza gustativa mediante estimulación lingual sugieren que el CAS promueve cambios en la actividad de la CI (Yamamoto et al., 1989; Grossman et al., 2008). De manera similar, se ha reportado que el CAS es capaz de producir cambios en la actividad de genes de expresión temprana como c-fos (Bernstein et al., 2007) e incluso modifica los mapas sensoriales de la CI en ratas (Accolla et al., 2008). Además, la CI se ha visto involucrada también en otras tareas de aprendizaje de tipo aversivo, como la prevención pasiva (Escobar et al., 1989; Bermúdez-Rattoni et al., 1991; Bermúdez-Rattoni, 2004).

3.4. LTP y conducta

Las memorias son presumiblemente almacenadas en subgrupos de neuronas que son activadas en respuesta a un conjunto de entradas sensoriales. Existen evidencias sólidas a favor de una relación entre el aprendizaje y la LTP. Se sabe que el aprendizaje suele estar asociado a cambios funcionales y estructurales en las sinapsis, involucrando la formación o pérdida de éstas, permitiendo la formación de trazos de memoria de larga duración del conocimiento adquirido. Asimismo, se sabe que dichos cambios también se encuentran asociados al establecimiento y mantenimiento de la LTP en diversas regiones cerebrales, estableciendo una relación estrecha entre los dos fenómenos (Hofer et al., 2009; Xu et al., 2009; Yang et al., 2009; Fu et al., 2012; Muñoz-Cuevas et al., 2013).

El aprendizaje es un producto de la experiencia diaria, y este producto se ve reflejado en cambios en la actividad de ensamblajes neuronales que codifican la información obtenida (Bear et al., 2001). Evidencias recientes sugieren que los trazos de memoria se almacenan únicamente en las poblaciones neuronales que presentan mayor excitabilidad, la cual es asociada a las acciones de factores de transcripción, como es el caso de CREB, por ejemplo aquellas neuronas de la amígdala que se

activan tras el entrenamiento en una tarea aversiva como el condicionamiento al miedo (Rogerson et al., 2014).

Como se mencionó anteriormente, se conoce que CREB es uno de los actores moleculares que participan en el mantenimiento de la LTP. Investigaciones recientes han demostrado que CREB es necesario para la recuperación de la información aprendida (Silva et al., 2009). En 2007 Han y colaboradores reportaron que, en animales entrenados en el condicionamiento de miedo a un tono, las neuronas de la amígdala lateral que fueron reclutadas para almacenar el trazo de información, fueron únicamente aquellas que previo al entrenamiento habían sido transfectadas con un virus que codifica para CREB (Han et al., 2007). Asimismo, al inactivar o remover dichas células en los animales entrenados, se generó una amnesia temporal para el condicionamiento (Zhou et al., 2009; Han et al., 2009). Adicionalmente, estudios electrofisiológicos muestran que tras el entrenamiento en el condicionamiento de miedo al tono, las mismas neuronas de la amígdala lateral, mostraron incrementos en la fortaleza sináptica, en comparación con las neuronas no transfectadas (Zhou et al., 2009). Estos trabajos sustentan la idea que postula que la memoria es almacenada en aquellas neuronas que presentan incrementos en la eficiencia sináptica.

En una serie de experimentos llevados a cabo por Rogan et al., en 1997 y McKernan et al., en el mismo año, se encontró que el condicionamiento al miedo causa incrementos en la pendiente y amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios (PPSEs) en la amígdala lateral en ratas adultas *in vivo* e *in vitro* (Rogan et al., 1997; McKernan et al., 1997). De igual forma Whitlock y colaboradores descubrieron que el entrenamiento en la tarea de prevención pasiva induce LTP en el área CA1 hipocámpal (Whitlock et al., 2006).

Con la aparición de técnicas como la optogenética, se ha podido explorar la relación entre el aprendizaje y la LTP desde una aproximación más detallada, logrando mapear los múltiples componentes de un ensamble neuronal que forma una huella mnemónica. Las neuronas que forman tal ensamble pueden ser etiquetadas durante el aprendizaje para su posterior identificación y manipulación, y si esas neuronas se eliminan o inactivan, se tiene como resultado una expresión reducida de la memoria almacenada. De manera similar, la sola activación de dichas células mediante la estimulación con un haz de luz es suficiente para recuperar la información aprendida (Liu et al., 2012). En una investigación más reciente, se analizó específicamente la relación entre las expresiones de plasticidad sináptica como la LTP y la depresión de

largo plazo (LTD) (la cual consiste en un decremento prolongado en la eficiencia sináptica tras una estimulación de baja frecuencia) y la memoria, para ello, se entrenó a ratas en el condicionamiento al miedo, pero se reemplazó el estímulo condicionado (EC) (tono) con estimulación optogenética en las proyecciones del núcleo auditivo sobre las neuronas de la amígdala lateral. La asociación entre el EC óptico con un choque eléctrico en las patas (estímulo incondicionado) generó una respuesta condicionada, la cual fue susceptible de ser extinguida y bloqueada por la inhibición del receptor NMDA, lo que implica la generación de una memoria asociativa. Tal manipulación fue capaz de generar LTP en las neuronas de la amígdala, y al ser ésta revertida con la generación de LTD en las mismas células se logró inactivar el trazo de memoria creado (Nabavi et al., 2014).

En 1998 Rioult-Pedotti et al. demostraron que el aprendizaje en habilidades motoras (motor skilllearning) incrementa la amplitud de los PPSEs en la corteza motora primaria del hemisferio entrenado con respecto a la corteza motora primaria del hemisferio contralateral, el cual sirvió como control (Rioult-Pedotti et al., 1998).

El mismo grupo de investigación entrenó a un grupo de ratas en la mencionada tarea para posteriormente inducir LTP y LTD en el hemisferio entrenado. Sus resultados mostraron que la LTP fue significativamente reducida mientras que la LTD fue significativamente incrementada en el hemisferio entrenado (figura 7), comparado con el hemisferio contralateral, utilizado como control (Rioult-Pedotti et al., 2000).

Las investigaciones descritas anteriormente indican que el entrenamiento en tareas conductuales es capaz de incrementar la eficiencia sináptica de una vía específica de manera análoga a la potenciación inducida por actividad repetitiva, sugiriendo que la LTP es una expresión plástica que forma parte de los mecanismos mediante los cuales es almacenada la información. Además, el efecto producido por la conducta sobre la habilidad de inducir subsecuentemente plasticidad sináptica guarda una estrecha relación con un fenómeno descrito por Abraham y Bear en 1996, quienes introdujeron al lenguaje de la neurociencia el término “metaplasticidad” (Abraham et al., 1996), el cual es considerado como un mecanismo de plasticidad homeostática que será descrito a continuación.

3.5. Plasticidad homeostática

Conforme el sistema nervioso se va desarrollando, numerosas experiencias van modificando sus conexiones a lo largo de la vida, por ello es congruente pensar que estas modificaciones plásticas necesiten de un mecanismo regulador que les permita mantenerse en un estado ideal (manteniendo una homeostasis) para poder seguir almacenando información (Nelson y Turrigiano, 2008). En este contexto, investigaciones recientes han reportado que las neuronas inician una serie de mecanismos homeostáticos con el fin de mantener los niveles de eficiencia sináptica en un rango determinado, resistiéndose de este modo a modificaciones abruptas que pueden causar daño o muerte neuronal; por tanto, a este tipo de cambios en las propiedades nerviosas se les ha dado el nombre de plasticidad homeostática (Nelson y Turrigiano, 2008). Este tipo de modificaciones se presenta de distintas formas dependiendo del tipo de plasticidad sináptica inducida y la vía que sea sujeto de estudio. Dos de los mecanismos principales de la plasticidad homeostática son la metaplasticidad y el escalamiento sináptico.

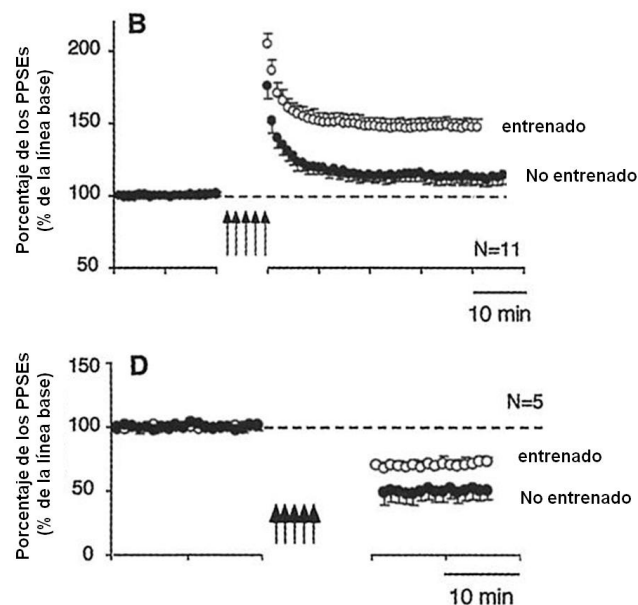


Figura 7. El entrenamiento en habilidades motoras modifica la inducción subsecuente de plasticidad sináptica en la corteza motora. El entrenamiento en tareas motoras disminuye la magnitud de la LTP e incrementa la de la LTD. Círculos negros: hemisferio entrenado. Círculos blancos: hemisferio no entrenado (Modificado de Rioult-Pedotti et al., 2000).

3.5.1. Metaplasticidad y escalamiento sináptico

Hoy en día existen evidencias que muestran que la historia de la actividad de una neurona o vía de conexión puede modificar la manera en que ésta presenta

subsecuente plasticidad sináptica (Abraham, 2008). En este sentido, se han observado cambios subsecuentes al inducir LTP en una misma vía; estos cambios incluyen una inhibición de la LTP y una facilitación de la depresión de largo plazo (LTD) (Malenka, 1991; Huang et al., 1992). A este fenómeno se le conoce como metaplasticidad y se define como el cambio en la habilidad para inducir subsecuente plasticidad sináptica. Este tipo de modificaciones se presentan incluso cuando la actividad previa no es suficiente para producir modificaciones observables en la eficiencia sináptica (figura 8a).

En 1982 Bienenstock, Cooper y Munro propusieron la existencia de un umbral de activación postsináptica, es decir, una vía es potenciada cuando la activación postsináptica excede un valor crítico, llamado umbral de modificación o θ_m , mientras que una vía es depotenciada cuando la activación postsináptica es mayor que cero pero menor que el valor θ_m (figura 8b), a esta teoría también se le denominó BCM (por las iniciales de los autores). Es importante señalar que este umbral no es fijo (Bienenstock et al., 1982). La frecuencia de estimulación es directamente proporcional a la activación de la postsinapsis, esto es, que a frecuencias más altas se da una mayor activación de la postsinapsis, mientras que a frecuencias más bajas la activación es menor, por lo cual el nivel de potenciación o depotenciación depende de la frecuencia de estimulación (Bear, 1996). Esta relación se explica mediante el hecho de que la cantidad de calcio que ingresa a la neurona es dependiente de la frecuencia mediante la cual se le estimula (Jedlicka, 2002; Bear, 2003), de hecho se ha reportado que cuando se aplica estimulación que induce LTP, pero se inhibe parcialmente la entrada de calcio a la célula, se presenta LTD en lugar de LTP (Taniike et al., 2008). La modificación del umbral es temporal y es considerado como un mecanismo homeostático que protege a las neuronas, por ejemplo, de estímulos de muy alta intensidad o frecuencias que pudieran provocar excitotoxicidad (Bear, 2003). Durante las tres décadas posteriores al origen de la teoría BCM, numerosas investigaciones se han dirigido a dilucidar algunas propiedades fundamentales de la plasticidad sináptica y han generado una comprensión más clara de la relación entre la estructura matemática de la teoría y los mecanismos moleculares que subyacen al aprendizaje y la memoria (Cooper et al., 2012).

El hecho de que existan cambios metaplásticos durante tareas de aprendizaje nos sugiere que estos cambios no solo tienen un papel neuroprotector, sino modulador del almacenamiento de información.

Recientemente, se han comenzado a estudiar los mecanismos moleculares relacionados con estos tipos de plasticidad y se ha encontrado que existen varios mecanismos encargados de comandar una regulación en las células excitadas. Por un lado, la modulación de la actividad de proteínas cinasas y fosfatasa puede modificar el umbral para la inducción de plasticidad sináptica. Por ejemplo, la entrada de calcio provoca la autofosforilación de la CaMKII, lo cual, limita la actividad de dicha proteína, evitando que realice acciones que se encuentran relacionadas con la inducción de la LTP (Jedlicka, 2002; Bear, 2003; Zhang et al. 2005). Por otro lado, la calcineurina, una proteína fosfatasa relacionada con la inducción de la LTD, es activada durante la metaplasticidad, promoviendo cambios que favorecen a la inducción de la LTD y desfavorecen la inducción de la LTP, entre los que se encuentra la regulación negativa de la PKA (Mansuy, 2003).

Se han reportado investigaciones en donde la privación de estímulos visuales incrementa la probabilidad de inducir LTP en la corteza visual primaria que está acompañado de un aumento en la expresión de las subunidades NR2B de los receptores NMDA, mientras que la estimulación visual aumenta la capacidad de inducir LTD por medio de la expresión de las subunidades NR2A en esta vía (Yashiro y Philpot, 2008) (figura 8c). Esto puede deberse a que la subunidad NR2A tiene una cinética más rápida, es decir, en períodos de tiempo iguales, los canales NMDA que contienen la subunidad NR2A se abren y se cierran un mayor número de veces que cuando estos canales contienen la subunidad NR2B (Erreger et al., 2005). Este efecto produce que los receptores NMDA que contengan subunidades NR2A, presenten una mayor resolución (es decir, responde más efectivamente) ante los estímulos de alta frecuencia, como los que inducen LTP, mientras que los que contengan la subunidad NR2B tendrán una mayor resolución ante estímulos de baja frecuencia, como los que inducen LTD (Quinlan et al., 2004; Pérez-Otaño y Ehlers, 2005).

La modificación en el umbral θ_m también se ha atribuido a la modulación en las propiedades de canales iónicos dependientes de voltaje que se encuentran relacionados con las corrientes AHP (siglas en inglés para la hiperpolarización que sucede al potencial de acción). Se ha reportado que la activación de receptores glutamatérgicos metabotrópicos (mGlu) pueden reducir la corriente AHP, modificando la posibilidad de inducir LTP (Cohen et al., 1999; Abraham, 2008). Además, se ha visto que la estimulación de alta frecuencia puede hacer más rápida la AHP por unos minutos. Es interesante mencionar que dicho fenómeno es independiente de la PKC

pero depende de la PKA y está asociado a una modificación del umbral θ_m hacia la izquierda, lo cual se ve reflejado como una facilitación en la inducción de LTP. Se ha reportado que la activación de receptores mGluR puede reducir la hiperpolarización de la membrana después del potencial de acción, modificando la posibilidad de inducir LTP (Cohen et al., 1999).

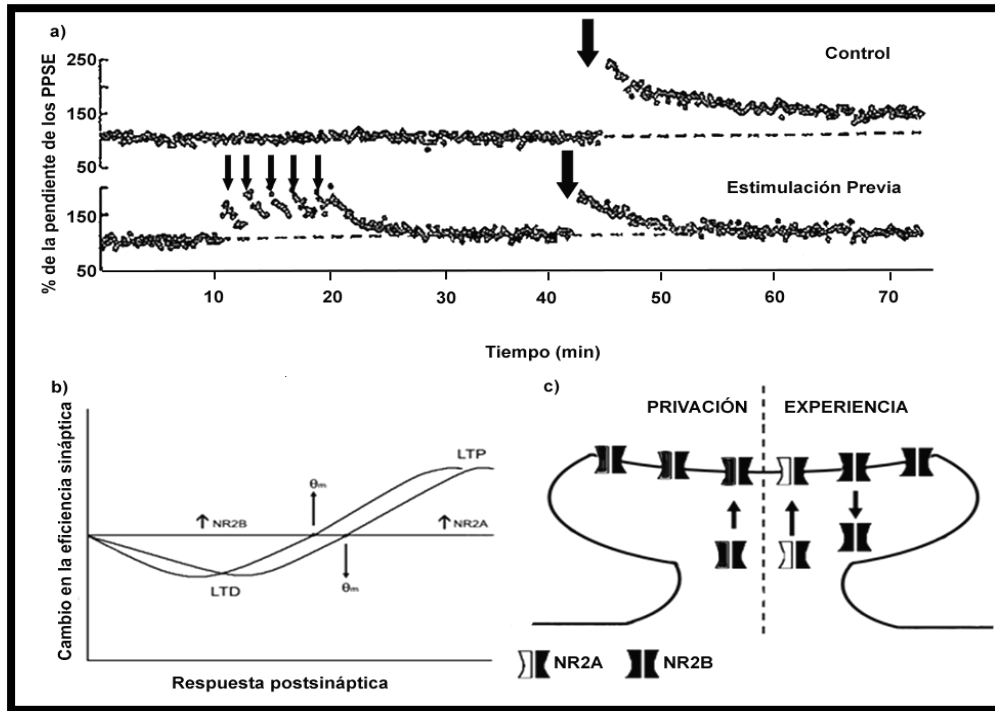


Figura 8. Metaplasticidad. a) La estimulación eléctrica (5 pulsos de 10Hz que no generan LTP; marcado con flechas pequeñas) previa a una estimulación de alta frecuencia (flecha grande) modifica la posibilidad de inducir una subsecuente potenciación (panel inferior) presente en los animales control (panel superior) (Modificado de Huang et al., 1992); b) Modelo teórico de metaplasticidad en donde se modifica el umbral θ_m en respuesta a la actividad; c) Modelo de los mecanismos de la metaplasticidad en la corteza visual primaria, en donde la privación de estímulos visuales incrementa la probabilidad de inducir LTP por medio de un aumento en la expresión de las subunidades NR2B de los receptores NMDA, mientras que la estimulación visual (experiencia) aumenta la capacidad de inducir LTD por medio de la expresión de las subunidades NR2A en esta vía (Modificado de Yoshida et al. 2008).

Otro mecanismo desarrollado por el SN para preservar su homeostasis es el escalamiento sináptico, el cual mantiene en un nivel estable la excitabilidad neuronal mediante un incremento progresivo de la eficiencia sináptica, como respuesta a la inhibición prolongada de actividad y un decremento progresivo de la eficiencia sináptica como respuesta a la excitación neuronal crónica.

En 1998, Turrigiano y colaboradores reportaron que el bloqueo durante 48hrs de los receptores al GABA producía una disminución de las corrientes postsinápticas excitatorias miniatura (CPSEm), compensando el aumento de actividad. De manera

similar, cuando se presenta una inhibición crónica de los canales de sodio con tetrodotoxina, se genera un incremento de las CPSEm, compensando la disminución de actividad (figura 9) (Turrigiano et al., 1998; Turrigiano y Nelson, 2004).

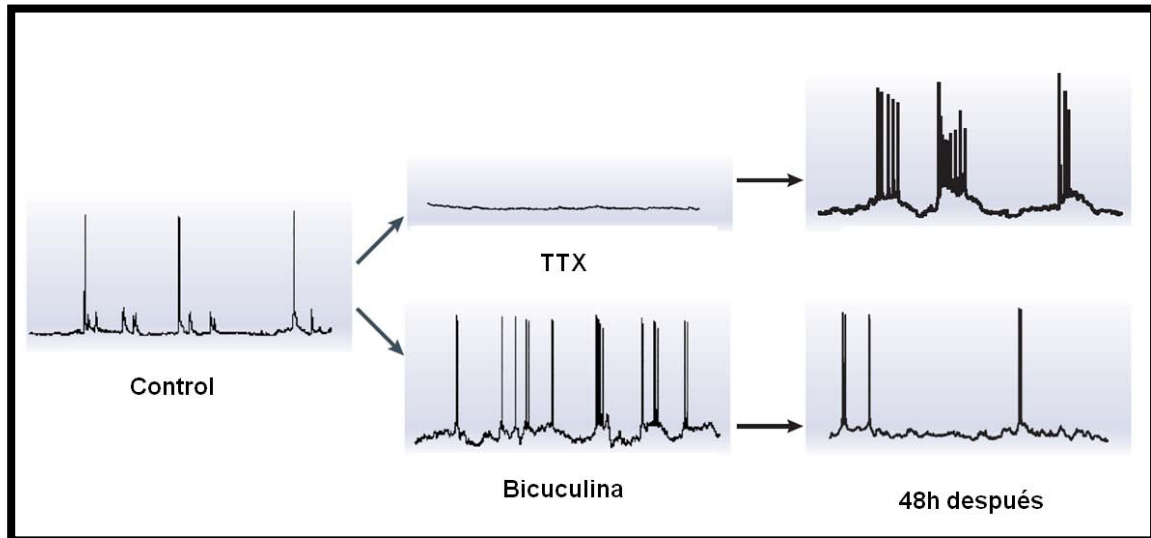


Figura 9. Escalamiento sináptico. El bloqueo crónico de la actividad producido por la aplicación de tetrodotoxina (TTX) incrementa progresivamente las corrientes postsinápticas excitatorias miniatura (CPSEm) y el incremento prolongado de la actividad producido por la aplicación de bicuculina disminuye progresivamente las corrientes postsinápticas excitatorias miniatura (CPSEm) (Modificado de Turrigiano y Nelson, 2004).

El escalamiento sináptico se ha observado en cultivos neocorticales, hipocampales, de médula espinal y en el núcleo accumbens, así como en preparaciones *in vivo* (Abbott y Nelson, 2000) y muestra que las células del SN tienen la capacidad de integrar los estímulos recibidos para ajustar la eficiencia sináptica mediante la modulación del paso de corriente a través de los canales iónicos (Turrigiano y Nelson, 2000).

3.5.2. Metaplasticidad y conducta

La plasticidad homeostática es actualmente considerada como un fenómeno que tiene especial importancia para la modulación de la actividad en el SN. Así como la plasticidad homeostática es un mecanismo muy importante para la adaptación y protección de las células neuronales, es relevante subrayar que dichos mecanismos tienen un papel crucial en fenómenos como el aprendizaje y la memoria (Abraham, 2008; Turrigiano, 2008; Turrigiano, 2011). A este respecto, los cambios metaplásticos se encuentran representados en diversas áreas del SN central como la neocorteza o el

hipocampo, áreas que se consideran como el almacén de diversos tipos de memoria (Bear, 1996). Cambios metaplásticos inducidos por la conducta han sido reportados en diferentes áreas del SN, como en la amígdala lateral debido al condicionamiento al miedo (Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005; Hong et al., 2011). Ejemplos de áreas neocorticales donde se han inducido cambios metaplásticos debido al entrenamiento en tareas conductuales son la corteza motora debido al entrenamiento de tareas motoras (Rioult-Pedotti et al., 2000), la corteza piriforme debido a tareas de discriminación olfativa (Quinlan et al., 2004), la corteza visual en respuesta a la estimulación visual (Philpot et al., 2007) la corteza somatosensorial debido a la estimulación de las vibrisas (Clem et al., 2008) e, incluso, se han reportado cambios metaplásticos *in vivo* en la corteza motora en respuesta al entrenamiento en habilidades motoras (Monfils et al., 2004). Estas evidencias sugieren que los cambios metaplásticos forman parte de las modificaciones sinápticas involucradas en el almacenamiento de la memoria de tareas conductuales en la neocorteza.

En humanos se han realizado investigaciones que relacionan al aprendizaje con los cambios en la excitabilidad de las neuronas. En una tarea de aprendizaje se entrenó a un grupo de sujetos a incrementar la velocidad en el movimiento de su dedo pulgar, este aprendizaje está asociado con un cambio rápido en la excitabilidad de la corteza motora primaria y es inhibido por la previa estimulación magnética transcraneal en esta zona de la corteza, similar a lo encontrado por Rioult-Pedottien el 2000 (Muellbacher et al. 2001).

3.5.3. CAS y LTP en la corteza insular

Como se mencionó en líneas anteriores, el entrenamiento previo en tareas conductuales produce un efecto metaplástico que modifica la inducción subsecuente de LTP. Además, existen evidencias que muestran que la previa inducción de la LTP también puede modificar el desempeño durante el entrenamiento en tareas conductuales (Moser et al., 1998; Escobar y Bermudez-Rattoni, 2000). En 1998 Moser et al. observaron que la saturación de LTP en la vía perforante disminuye la memoria espacial (Moser et al., 1998). Esta relación entre la LTP y el aprendizaje de tareas no es exclusiva del hipocampo. Estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado que la inducción de LTP en la CI antes del CAS provoca una disminución en el consumo de sacarina durante las pruebas de extinción comparados con los grupos

controles a los cuales no se les indujo LTP previa al entrenamiento en dicha tarea (Escobar y Bermudez-Rattoni, 2000). Aunado a lo anterior, nuestras investigaciones recientes muestran que el entrenamiento en el CAS bloquea la posibilidad de inducir subsecuente LTP en la vía Bla-CI, y que dicho fenómeno es dependiente de los receptores NMDA y de la actividad diferencial de proteínas cinasas como PKA y PKC (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rodríguez-Durán y Escobar, 2014) (Figura 10). Hoy en día se cree que el fenómeno de metaplasticidad no sólo tiene como función el mantenimiento de la homeostasis de las sinapsis, sino podría también funcionar como un modulador de la información, al preservar por largo tiempo un trazo de memoria.

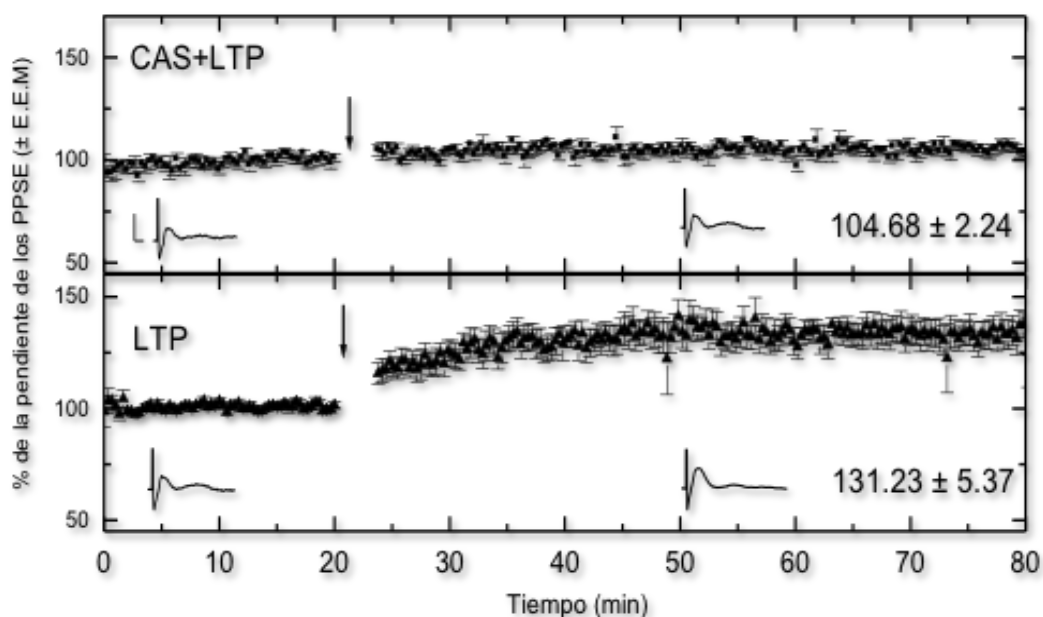


Figura 10. Efecto del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de LTP en la vía Bla-CI. En esta gráfica se muestra la media \pm error estándar del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base, registrados en la vía Bla-CI. En la gráfica superior se observa el efecto metaplástico producido por la conducta, ya que el entrenamiento previo en el CAS bloquea la posibilidad de inducir subsecuente LTP en la CI, como parte de un mecanismo homeostático. En la gráfica inferior se muestra la inducción de LTP sin ninguna manipulación previa. Las flechas negras indican la aplicación de los trenes de alta frecuencia con el propósito de inducir LTP. En la parte inferior de cada gráfica se observa el porcentaje de los PPSEs con respecto a la línea base, después de la aplicación de la estimulación de alta frecuencia. Asimismo, se observan potenciales representativos de la CI, antes y después de la inducción de la LTP. Modificado de Rodríguez-Durán et al., 2011.

3.6. Las neurotrofinas

La diversidad celular en el SN se origina a partir de la acción concertada de los procesos de proliferación celular, diferenciación, crecimiento, migración, supervivencia y formación de sinapsis. Entre los mensajeros involucrados en la comunicación

neuronal que da origen a estos procesos se encuentran ciertas moléculas denominadas factores tróficos, o factores neurotróficos, que son proteínas que controlan la supervivencia, el crecimiento y las capacidades funcionales de poblaciones específicas de neuronas (Escobar, 1994). Diversos hallazgos han reportado la participación de este grupo de proteínas en la modulación de plasticidad sináptica de larga duración (Messaoudi et al., 2002; Escobar et al., 2003; Lu et al., 2005; Je et al., 2006; Gómez-Palacio-Schjetnan y Escobar, 2008; Schjetnan y Escobar, 2012; Ramos-Languren y Escobar, 2013). En el SNC las neurotrofinas se encuentran expresadas predominantemente en la neocorteza y el hipocampo. Actualmente se sabe que sus niveles de secreción son regulados por la actividad sináptica y que ejercen sus acciones en la eficiencia de la comunicación de las sinapsis tanto en las células presinápticas como en las postsinápticas (Kolarow et al., 2007; Lu et al., 2005). La investigación realizada durante las dos décadas pasadas ha revelado que las neurotrofinas regulan casi todo los aspectos del desarrollo de circuitos neuronales y su funcionamiento, incluyendo proliferación y diferenciación, crecimiento axonal y dendrítico, así como la plasticidad sináptica (Park et al., 2013). Los factores neurotróficos o neurotrofinas constituyen una familia conformada por el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la neurotrofina-3 (NT3), la neurotrofina-4/5 (NT-4/5), la neurotrofina-6 (NT-6) y la neurotrofina-7 (NT-7) (Nilsson et al., 1998)

Inicialmente, las neurotrofinas son sintetizadas como proteínas precursoras (proneurotrofinas), de forma similar a los neuropéptidos y posteriormente son procesadas por diversas enzimas que producen a la proteína madura una vez que han sido liberadas al medio extracelular (Lessmann et al., 2003). Cada una de estas proteínas en su forma madura forma un complejo con una proteína gemela (dímero), permitiendo la activación de sus receptores específicos (Chao, 2003). Se ha descrito que existe liberación postsináptica de neurotrofinas como NT-3 y BDNF, la cual es modulada por la CaMKII (Kolarow et al., 2007).

Las neurotrofinas actúan por medio de dos tipos de receptores, los de tirosina cinasa denominados Trk (de alta afinidad con las neurotrofinas maduras) y los p75 (de baja afinidad con las proteínas maduras, pero alta con las inmaduras o precursoras). Las proneurotrofinas actúan como señalizadores moleculares a través de su interacción con el receptor p75, ejerciendo efectos biológicos opuestos a los evocados por las neurotrofinas maduras. De esta manera, la segmentación proteolítica de las

proneurotrofinas representa un mecanismo de control que direcciona las acciones de las neurotrofinas (Lu et al., 2005). Los diferentes tipos de receptores Trk identificados hasta el momento, son activados principalmente por uno o varios miembros de esta familia de proteínas. Así, el TrkA actúa como receptor del NGF, el TrkB principalmente para el BDNF y la NT-4/5, y el TrkC para la NT-3 (Chao 2003).

Existen isoformas de los receptores Trk denominados receptores truncados, que carecen de los residuos de tirosina cinasa. Los receptores truncados son capaces de unirse con sus correspondientes ligandos e incluso se internalizan, pero son incapaces de iniciar los eventos de fosforilación requeridos para la transducción de señales. De esta manera la distribución y concentración membranal de los receptores truncados podría potencialmente modular la actividad de las neurotrofinas restringiendo la disponibilidad de estos factores para interactuar con los receptores completos (Rose et al. 2003). Una característica interesante de las acciones de las neurotrofinas, radica en su capacidad para autorregular su producción así como la de otras proteínas miembros de esta familia. Un ejemplo en este sentido lo constituye el estudio realizado por Patz y Wahle en el 2004, en dicho estudio se observó que la administración de BDNF origina incrementos en la expresión de BDNF, NGF y NT-3, en tanto que disminuye la expresión de NT-4, en cultivos de neuronas corticales (Patz y Wahle 2004).

Una vez que las neurotrofinas se ligan a su receptor Trk pueden activar tres cascadas metabólicas que incluyen la vía de MAPKs (proteínas cinasas activadas por mitógenos), la vía de los fosfoinosítidos (PI3K-Akt) y la vía de la PLC γ ; estas vías de señalización tienen como punto final la activación de síntesis proteica y las consecuentes modificaciones en la comunicación y la morfología de las sinapsis (figura 11) (Patapoutian et al., 2001).

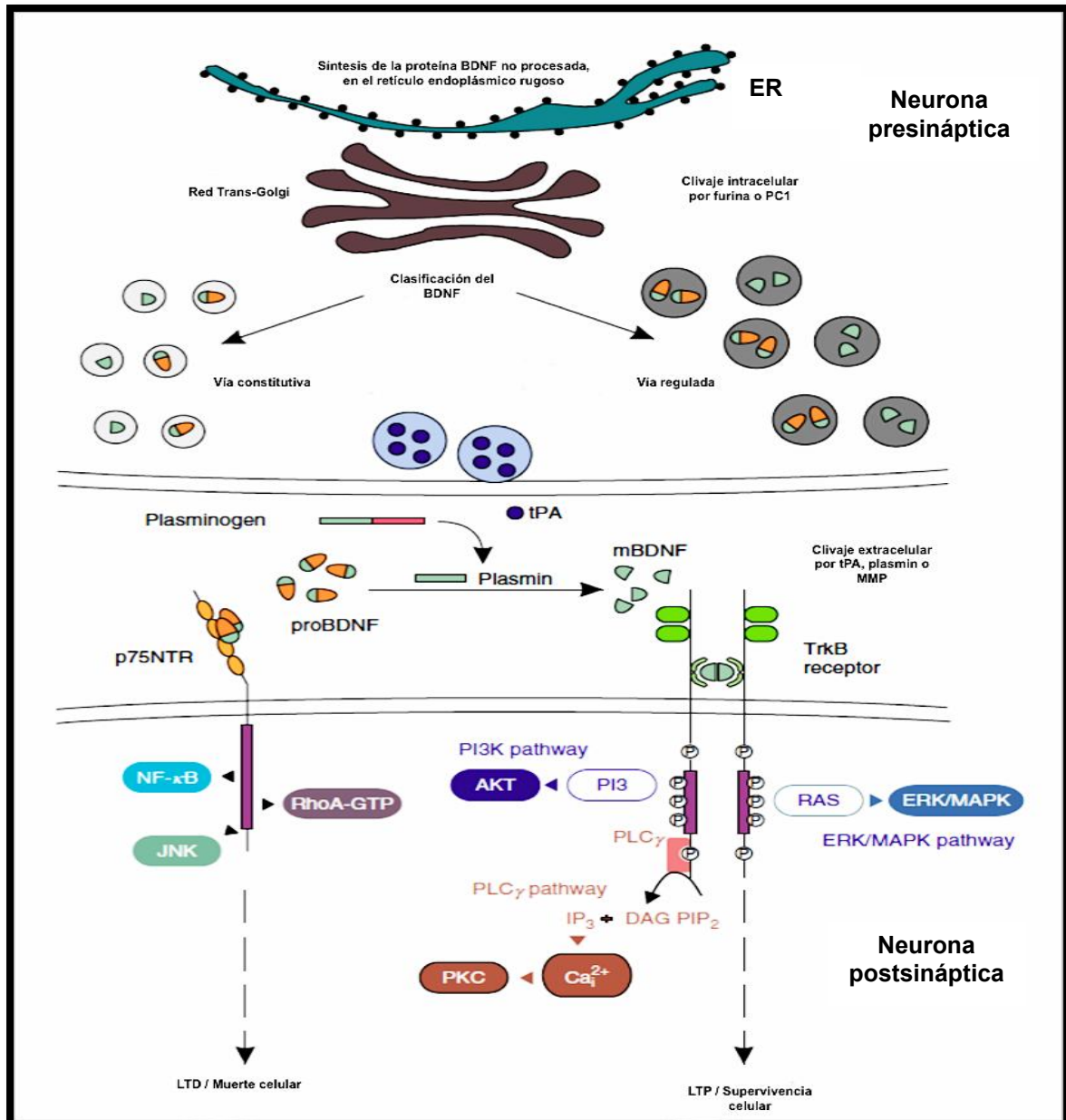


Figura 11. Síntesis, tráfico y señalización del receptor de BDNF. Inicialmente sintetizada en el retículo endoplásmico (ER) como una proteína precursora, el proBDNF se pliega adecuadamente en la red trans-Golgi y se empaqueta en vesículas secretoras. Posteriormente, el BDNF se clasifica, ya sea, en la vía secretora constitutiva o en la regulada, y se transporta al sitio apropiado de la liberación. El pro-dominio puede ser escindido intracelularmente por furina o por proteínas convertasas, lo que resulta en la secreción de BDNF maduro (mBDNF). Alternativamente, el proBDNF puede ser secretado extracelularmente y ser clivado por la cascada tPA/plasmina o por metaloproteinasas (MMP) para producir mBDNF. Una vez secretado, proBDNF y mBDNF provocan acciones biológicas opuestas a través de dos sistemas de receptores de señalización diferentes. mBDNF se une al receptor TrkB, que conduce a la autofosforilación de residuos de tirosina en el dominio tirosina cinasa. En consecuencia, tres principales cascadas de señalización pueden ser activadas por mBDNF-TrkB. La vía PI3K, ERK / MAPK, y la vía PLC γ . En contraste, proBDNF se une al receptor p75, lo que resulta en la activación de varias moléculas de señalización, incluyendo NF- κ B, JNK y RhoA (Modificado de Woo et al., sin fecha).

3.6.1. EI BDNF

El BDNF es una proteína dimérica cuyo peso molecular es de 27 kDa y su secreción en forma madura, activa preferencialmente a los receptores TrkB, mientras que en su forma inmadura, el proBDNF, se liga al receptor p75 (figura 11), favoreciendo la generación de mecanismos apoptóticos. Se ha observado una alta expresión de esta neurotrofina y de su receptor de alta afinidad, TrkB, en la neocorteza, así como en distintas regiones del sistema nervioso central: corteza piriforme, amígdala, formación hipocampal, entre otras (Yan et al., 1997). Esta neurotrofina se encuentra contenida en vesículas secretoras, presentes en los botones terminales y en las dendritas, principalmente de las neuronas glutamatérgicas, y su secreción se da en forma dependiente de actividad tanto de sitios pre como post sinápticos (Hartmann et al., 2001). Se conocen dos vías por las cuales ésta neurotrofina es secretada:

- *Vía regulada:* Implica exocitosis dependiente de Ca^{2+} de los gránulos secretores. El proBDNF sale de la red trans-Golgi en gránulos secretores inmaduros que contienen una serie de proteínas convertasas. El BDNF maduro es liberado en gránulos secretores en una ruta hacia la membrana plasmática. Los gránulos se acumulan en la membrana plasmática y son eventualmente liberados sobre disparos de señalización por una secreción regulada. Esta vía permite a las neurotrofinas controlar la eficiencia sináptica de una forma rápida, y específica de vías de entrada.
- *Vía constitutiva:* Emplea un tipo distinto de vesículas que liberan su contenido cuando alcanzan la membrana plasmática. Las proteínas convertasas presentes en la red trans-Golgi pueden escindir la pro-secuencia y el BDNF maduro es direccionado hacia una liberación constitutiva. Esta vía produce un suministro sostenido de neurotrofinas extracelulares, regulando su concentración basal en el espacio extracelular (Lessmann y Brigadski, 2009; Figura 11).

Dentro de los posibles mecanismos que favorecen la secreción de BDNF en forma regulada se encuentran: la activación de los canales de calcio tipo N y la movilización de Ca^{2+} de sus almacenes internos (Balkowiec et al., 2002; citado por Lu et al., 2008). De esta forma, el BDNF puede ejercer sus efectos tanto pre como postsinápticamente. Presinápticamente, regula la liberación de glutamato, mientras que postsinápticamente, produce modificaciones y síntesis de receptores a este neurotransmisor, expresión génica y alteraciones locales en la síntesis de proteínas

(Carvalho et al., 2008). De hecho, una de las explicaciones por las cuales el BDNF actúa específicamente en las sinapsis activas, es debido a la síntesis local de BDNF y de su receptor de alta afinidad en las dendritas (Righi et al., 2000).

El BDNF posee varias características que lo postulan como una de las proteínas sustanciales implicadas en la plasticidad sináptica: su forma de secreción dependiente de la actividad, las regiones del SNC en las cuales tanto la neurotrofina como su receptor TrkB se encuentra altamente concentrado (como la formación hipocampal y la neocorteza), su regulación tanto pre como postsináptica que favorece las modificaciones sinápticas, etc., sugieren que esta neurotrofina juega un papel importante dentro de los mecanismos que subyacen a fenómenos plásticos.

3.6.2. BDNF y plasticidad sináptica

Las evidencias acerca de la participación del BDNF en fenómenos plásticos sugieren que esta neurotrofina contribuye de manera tanto permisiva, estableciendo las condiciones para que los cambios plásticos puedan llevarse a cabo, como instructiva, ejerciendo efectos directos que producen cambios en la comunicación y morfología de las sinapsis (Bramham et al., 2005).

A nivel presináptico el BDNF incrementa la liberación del neurotransmisor (a través de la fosforilación de proteínas que forman parte del aparato de liberación) (Tyler et al., 2006), mientras que sus acciones en la postsinapsis incluyen la fosforilación de receptores a glutamato tanto de tipo NMDA como no-NMDA (Lin et al., 1998), la producción de mensajeros retrógrados, la elevación de concentraciones de calcio y la activación de síntesis proteica (Yamada et al., 2002).

Evidencias recientes señalan que el BDNF participa en la regulación de la plasticidad sináptica dependiente de la actividad asociada a los procesos de aprendizaje y memoria (Yamada et al., 2002). Esta posibilidad se ve respaldada por numerosos hallazgos entre los que podemos mencionar los incrementos en los niveles de BDNF, del mRNA que lo codifica, así como de su receptor TrkB (Bramham et al., 1996) tras la inducción de LTP.

Los efectos del BDNF en la plasticidad sináptica están ineluctablemente relacionados con la activación de su receptor TrkB (Park y Poo, 2013). En este sentido, se ha reportado un aumento en la transcripción, el transporte y la traducción de TrkB tras la actividad de alta frecuencia capaz de inducir LTP. La inserción y endocitosis de

este receptor (necesarias para la activación de sus residuos de tirosina) son también reguladas por la actividad sináptica. Además, la secreción del BDNF induce el movimiento lateral de sus receptores hacia los sitios en los que se generan los cambios plásticos (Pereira y Chao, 2007).

Otro hallazgo de gran relevancia que subraya la participación de esta neurotrofina en la plasticidad sináptica asociada a los procesos de aprendizaje y memoria lo constituye la observación de que la adición de BDNF produce dramáticos incrementos de larga duración en la transmisión sináptica (similares a la LTP) en preparaciones *in vivo* e *in vitro* tanto en el hipocampo como en la neocorteza de roedores (Escobar et al., 2003; Jiang et al., 2001; Kang y Schuman, 1995; Messaoudi et al., 2002). En 2003, Escobar y colaboradores reportaron que la infusión aguda de BDNF en la corteza insular es capaz de generar un incremento de larga duración en la eficiencia sináptica de la vía Blá-CI similar a la LTP inducida por estimulación de alta frecuencia en la misma vía (Escobar et al., 2003)(Figura 12).

Una de las estrategias empleadas en la evaluación de la participación del BDNF en la LTP ha sido la eliminación del gen que codifica a esta neurotrofina. Así, se han reportado decrementos severos en la capacidad de inducir LTP en neuronas hipocampales provenientes de cepas de ratón carentes del gen que codifica al BDNF(Patterson et al., 1996; Pang y Lu, 2004). Las deficiencias observadas en la inducción de LTP han sido subsanadas tras la administración exógena de BDNF (Patterson et al., 1996; Pang y Lu, 2004). Monteggia et al. (2004) reportaron un decremento en la expresión y mantenimiento de la LTP en animales adultos, en los que se indujo selectivamente el bloqueo de la expresión del gen que codifica al BDNF en neuronas hipocampales (Monteggia et al., 2004). Estos animales mostraron también deficiencias importantes en la ejecución de una tarea de aprendizaje espacial dependiente del hipocampo (Monteggia et al., 2004).

A pesar de que se han reportado efectos rápidos en la transmisión sináptica regulados por el BDNF a través de la activación de los canales de sodio dependientes de voltaje (Rose et al., 2004), las evidencias señalan que el BDNF tiene una participación primordial en la fase tardía de la LTP (Pang et al., 2004; Barco et al., 2005). Pang y Lu (2004) observaron que la administración de BDNF es capaz de restaurar la fase tardía de la LTP hipocampal, previamente abatida por la administración de inhibidores de la síntesis proteica. De manera similar, Barco y colaboradores (2005) reportan la restauración de la fase tardía de la LTP hipocampal en

animales carentes del gen que codifica al factor de transcripción CREB, tras la administración de BDNF. Estos estudios sugieren que el BDNF es un producto clave de la síntesis proteica que subyace a la fase tardía de la LTP.

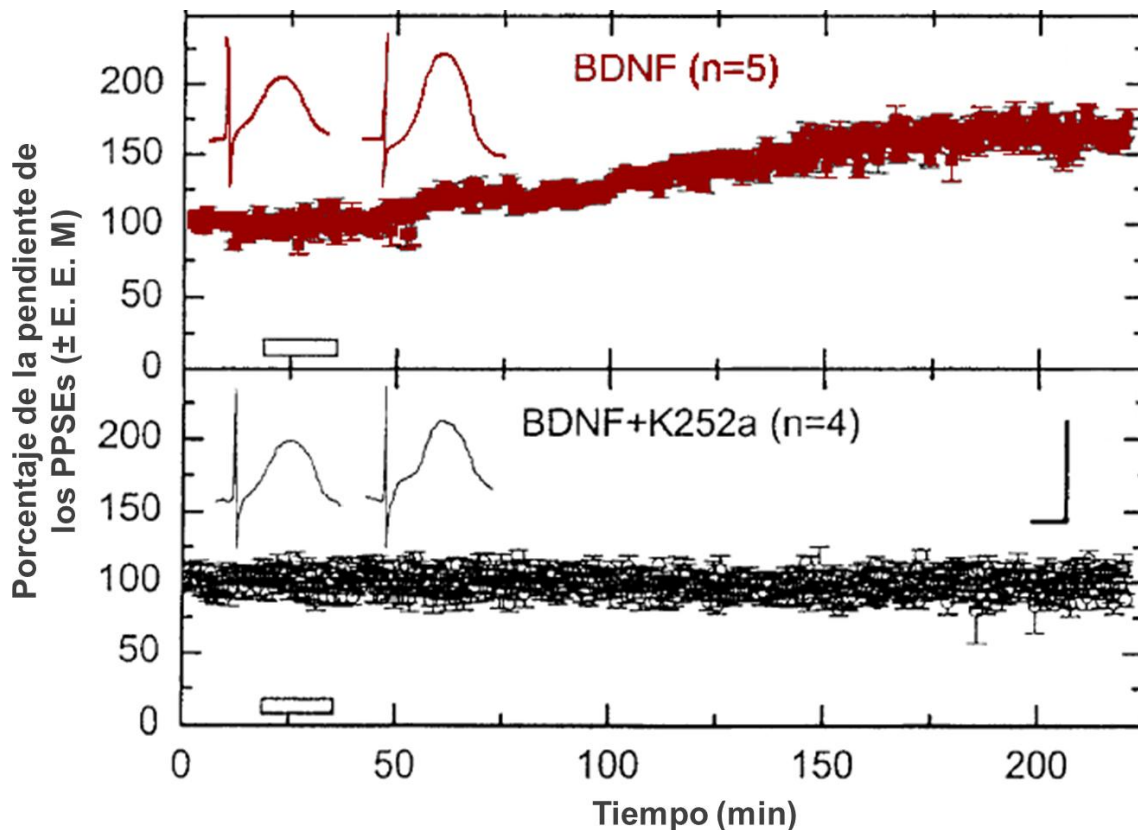


Figura 12. La infusión aguda de BDNF produce incrementos de la eficiencia sináptica en la corteza insular *in vivo*. En esta gráfica se muestra la media \pm error estándar del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base, registrados en la vía Bla-CI de animales que recibieron una microinfusión de BDNF (panel superior) y BDNF más el inhibidor de los receptores TrkB, K252a (panel inferior). Las barras indican el período de microinfusión (15 min). En el extremo superior derecho de cada panel se muestran los trazos representativos de los PPSE antes (izquierda) y después (derecha) de la infusión del BDNF ó BDNF+K252a. Modificado de Escobar et al., 2003.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Estudiar los procesos de aprendizaje y memoria desde la perspectiva de los mecanismos celulares y moleculares que los sustentan, nos acerca a entender de forma más clara el comportamiento y procesamiento de información en los seres vivos.

Se conoce claramente que las proyecciones del núcleo basolateral amigdalino hacia la corteza insular participan en el procesamiento del condicionamiento de aversión a los sabores (Bermúdez-Rattoni y McGaugh, 1991), y que éstas mismas son capaces de presentar LTP dependiente de los receptores NMDA debido a estimulación tetánica (Escobar et al., 2002; Escobaret al., 1998a; Escobar et al., 1998b). Asimismo,

hallazgos experimentales de nuestro laboratorio muestran que la inducción de LTP en la vía Bla-CI de manera previa al entrenamiento en el CAS, origina incrementos en la retención de dicho aprendizaje (Escobar y Bermúdez-Rattoni, 2000), en tanto que el entrenamiento en el CAS antecediendo a la estimulación tetánica en la misma vía, bloquea la posibilidad de inducir subsecuente LTP (Rodríguez-Durán et al., 2011).

Investigaciones acerca de los mecanismos moleculares que subyacen a los cambios en la eficiencia sináptica han revelado que entre los diversos actores que participan en la modulación del fortalecimiento sináptico, el BDNF posee la capacidad de inducir modificaciones de larga duración en el hipocampo y la neocorteza. En este sentido, investigaciones previas de nuestro laboratorio reportan que la infusión intracortical aguda de BDNF en la corteza insular origina incrementos en la eficiencia sináptica similares a los obtenidos tras la estimulación de alta frecuencia en la vía Bla-CI (Escobar et al., 2003).

Se han reportado evidencias que muestran que la historia de actividad de una neurona o vía de conexión es capaz de modificar la manera en que ésta presentará subsecuente plasticidad sináptica (Abraham, 2008). Asimismo, se ha planteado que el BDNF es un importante mensajero que da inicio a la modulación necesaria para el mantenimiento de las sinapsis en un estado homeostático que permita el almacenamiento de información subsecuente (Desai et al., 1999; Gómez-Palacio-Schjetnany Escobar, 2007; Schjetnany y Escobar, 2012; Gómez-Palacio-Schjetnany Escobar, 2013; Panja y Bramham, 2014).

Considerando los antecedentes expuestos, nos planteamos la siguiente pregunta: puesto que el CAS es capaz de generar cambios plásticos en la proyección Bla-CI similares a los inducidos por la LTP, incrementando el umbral para la generación de subsecuente plasticidad sináptica en la vía, ¿cuál será el efecto del entrenamiento en el CAS sobre el incremento en la eficiencia sináptica generada por la administración de BDNF?

El presente trabajo tuvo como objetivo responder a esta pregunta analizando la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de LTP generada por la microinfusión aguda de BDNF en la CI de ratas adultas *in vivo*.

5. OBJETIVOS

1. Analizar la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de LTP generada por la microinfusión de BDNF en la vía Bla-CI.
2. Investigar la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la excitabilidad neuronal basal de la vía Bla-CI.

6. HIPÓTESIS

- El entrenamiento en el CAS previene la subsecuente expresión de LTP dependiente de BDNF en la vía Bla-CI.
- El entrenamiento en el CAS modifica la excitabilidad neuronal basal de la vía Bla-CI.

7. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

7.1. Animales

Para la realización de este estudio se emplearon ratas macho de la cepa Wistar con pesos entre 350-380g, que tuvieron un período de habituación de una semana a las condiciones del bioterio, manteniéndose durante los experimentos en cajas individuales de acrílico con agua y alimento *ad libitum* (excepto en la fases experimentales que especifiquen lo contrario) y, en un ciclo de luz-oscuridad de 12/12 h, a una temperatura ambiente promedio de 27°C.

7.2. Entrenamiento en el CAS

Al inicio del entrenamiento en el CAS, los animales fueron privados de agua por 24 horas. Posteriormente, se les entrenó para beber agua dos veces al día (10:00 y 18:00 horas) durante 10 minutos por cada sesión de entrenamiento en un periodo de cuatro días, durante los cuales se estableció la línea base de consumo. Los bebederos fueron contruidos con probetas graduadas cubiertas con tapones de caucho horadados con boquillas de metal. El día de la adquisición los animales fueron privados de alimento y se sustituyó el agua por un sabor novedoso, solución de sacarina al 0.1% (Sigma, WI; 5.46 mM). Después de 10 minutos de la presentación del estímulo novedoso, se administró una dosis intraperitoneal de cloruro de litio (LiCl; 0.2 M; 9.37 ml/Kg) para inducir el malestar gástrico. Después de la sesión de adquisición, a las ratas se les

proporcionó de nueva cuenta agua dos veces al día con el fin de restablecer la línea base de consumo de agua. Una vez restablecida la línea base, el agua fue sustituida nuevamente por la solución de sacarina 0.1% durante la prueba de aversión. La disminución en el consumo de sacarina con respecto a la ingesta de agua con dicho sabor durante la sesión de adquisición fue usada como parámetro de la fuerza aversiva del CAS (figura 16).

7.3. Procedimiento Electrofisiológico

Durante los procedimientos quirúrgicos y electrofisiológicos, los animales fueron anestesiados con pentobarbital (50 mg/Kg IP), suministrando inyecciones suplementarias del mismo (25 mg/Kg) a intervalos de 1hr a fin de mantener los niveles quirúrgicos de anestesia. La temperatura del cuerpo fue mantenida a 35°C empleando un cojín homeotérmico.

Con el fin de sustentar lo reportado por Escobar y colaboradores, acerca de la capacidad del BDNF para inducir incrementos de larga duración en la eficiencia sináptica de la vía Bla-CI (Escobar et al., 2003), se efectuaron registros electrofisiológicos en ratas adultas *in vivo*. Brevemente, las respuestas fueron registradas utilizando un electrodo monopolar de infusión (Escobar et al., 2003), colocado en la región agranular de la CI (figura 14 y 15), siguiendo las coordenadas estereotáxicas: AP +1.2mm, ML 5.5 mm, DV -5.5mm (Paxinos y Watson, 1986). Los electrodos de registro/infusión fueron contruidos con una cánula guía de calibre 33 de acero inoxidable cubierta con un aislante, conectado a un cable de acero inoxidable cubierto de teflón (0.005", Medwire, Chicago IL, EUA). Este electrodo se acopló en su parte superior a una manguera de polietileno acoplada a su vez a una jeringa Hamilton de 10 µl comandada por una bomba de microinfusión (Cole Palmer Co.; EUA, figura 14 y 15).

Las respuestas fueron evocadas a través de la estimulación directa del núcleo basolateral amigdalino, empleando un electrodo bipolar trenzado de acero inoxidable de 127 micrómetros de diámetro colocado en las siguientes coordenadas estereotáxicas: AP -2.8mm, ML -5.0mm, DV -8.5mm ±0.2 (Paxinos y Watson, 1986). La estimulación (pulsos monofásicos de 50-70 µA y 0.25 ms de duración) fue suministrada por un estimulador Grass S48 y aplicada al electrodo de estimulación a través de una unidad PSIU6. Las respuestas evocadas fueron enviadas a un amplificador Grass P5.

Posteriormente, la señal fue digitalizada para su almacenamiento y análisis en una computadora provista con el software Datawave SciWorks (Longmont, CO). Para inducir el efecto de BDNF sobre la plasticidad sináptica de la proyección Bla-CI, se estableció una línea base de 20 minutos evocando respuestas cada 20 segundos (0.05Hz). Posteriormente, se realizaron infusiones intraparenquimalmente en la CI de BDNF, la sustancia vehículo o BDNF en compañía del inhibidor de los receptores Trk (K252a), y se obtuvieron registros post-infusión por 3 h con el fin de observar los cambios en la pendiente de los PPSEs (Escobar et al., 2003). Asimismo, para evaluar el efecto del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de plasticidad sináptica inducida por BDNF, se realizó el mismo procedimiento electrofisiológico, a excepción de la infusión de la sustancia vehículo o de la neurotrofina acompañada por el inhibidor de los receptores Trk.

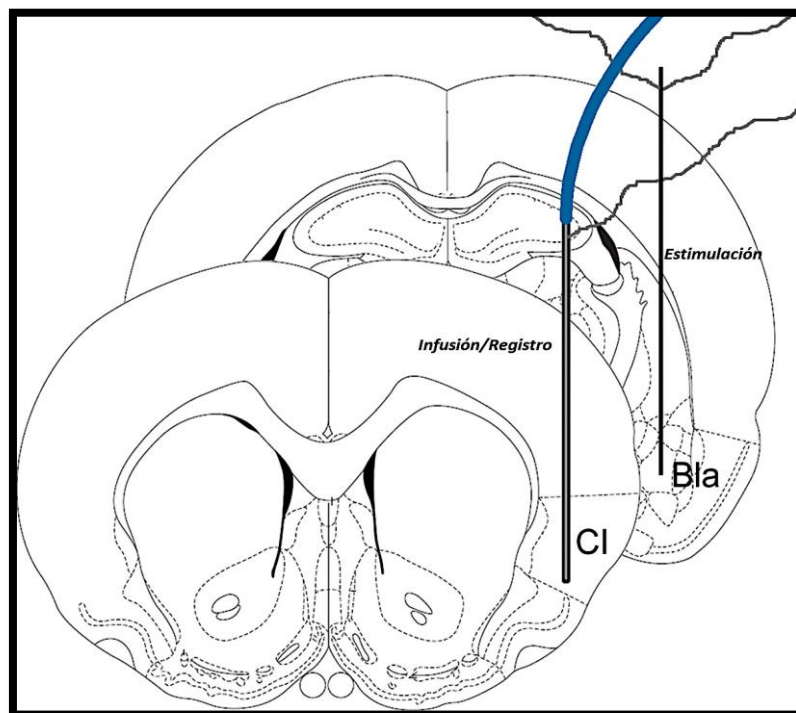


Figura 14. Esquema que muestra el lugar en el que fueron implantados los electrodos. El lugar donde se coloca el electrodo de estimulación en el núcleo basolateral amigdalino y el electrodo de registro-infusión en la corteza insular (Modificado de Paxinos y Watson, 1986).

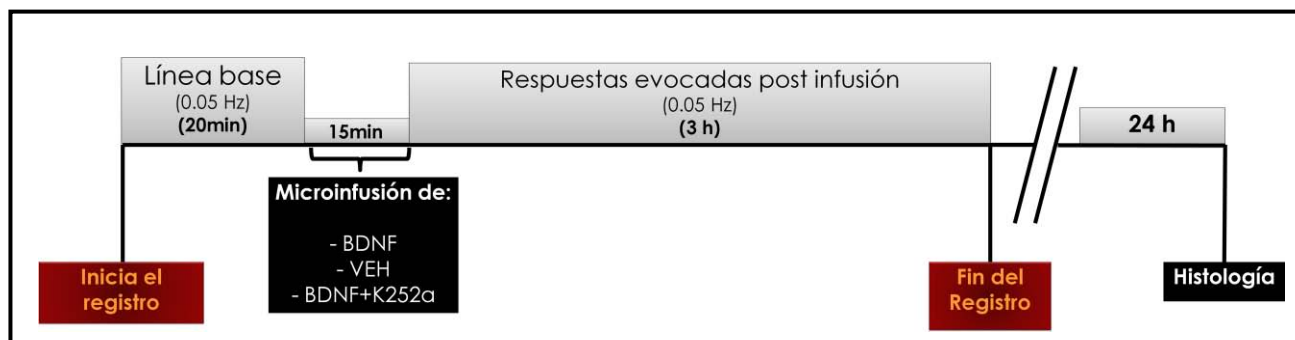


Figura 15. Esquema representativo de la primera fase experimental

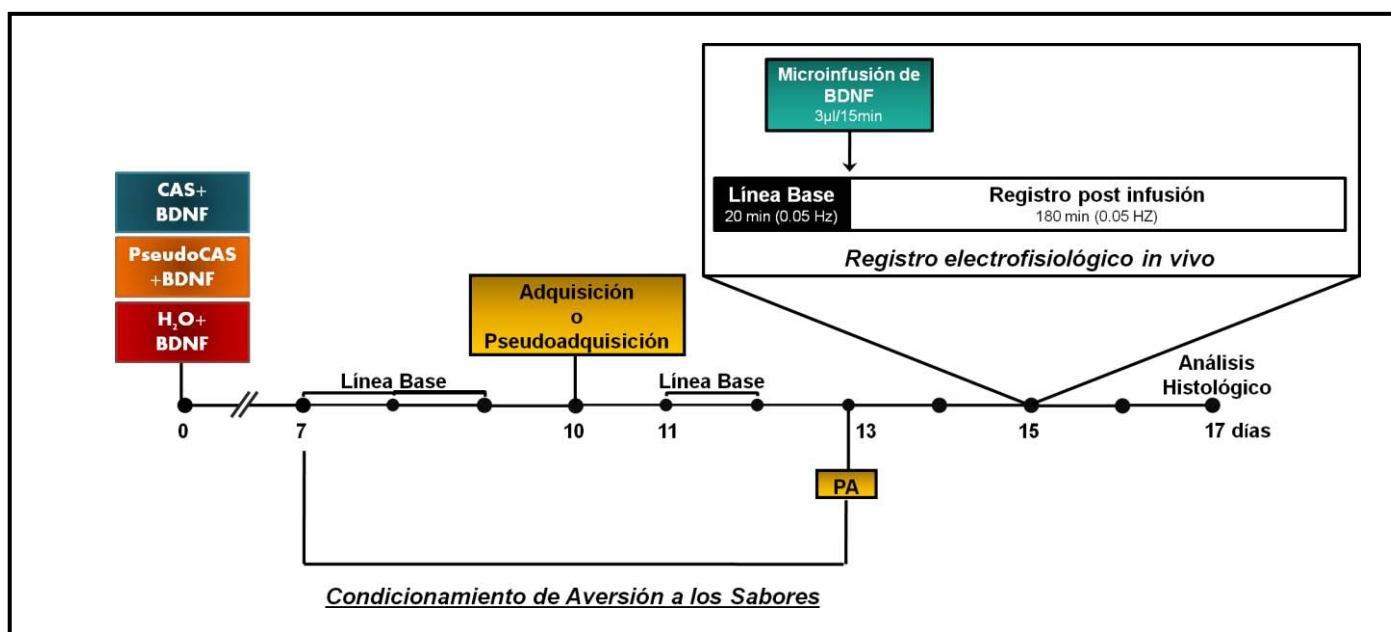


Figura 16. Esquema representativo de la segunda fase experimental. PA: Prueba de aversión.

7.4. Curvas entrada-salida (I/O)

Con el propósito de determinar la eficiencia sináptica para un rango determinado de intensidades de estimulación, se midió la relación entre la entrada de corriente y la salida de voltaje (I/O) en la vía Bla-CI utilizando múltiplos de una intensidad basal (1x-10x). La intensidad basal fue determinada como la estimulación necesaria para evocar una respuesta de 10 mV.

7.5. Histoquímica de Nissl

Con el fin de verificar la posición exacta de los electrodos en el cerebro de la rata, se utilizó la técnica histológica de Nissl. Tras los experimentos electrofisiológicos, los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis del anestésico pentobarbital.

Posteriormente, los animales fueron perfundidos transcárdialmente con 400 ml de solución salina al 9% (pH 7.4), seguido por 400 ml de paraformaldehído (4%), glutaraldehído (0.2%) y amortiguador de fosfatos al 0.1M con pH 7.4. El periodo de exposición a los fijadores fue de 30 minutos. Los cerebros fueron entonces transferidos a una solución de sucrosa al 30% en PBS 0.1M (pH 7.4) en la cual se mantiene a 4°C durante 48 horas. Secciones coronales de 40 µm fueron colectadas en amortiguador de fosfatos tras su obtención por microtomo de congelación (LEICA RM 2000R). Las muestras fueron teñidas con violeta de cresilo y examinadas en un microscopio de luz.

7.6. Análisis de datos

El análisis de los datos generados durante los experimentos conductuales se efectuó a través del ANOVA factorial, en tanto el correspondiente a los experimentos electrofisiológicos empleó el ANOVA para medidas repetidas. En ambos casos se empleó la prueba post-hoc de Fisher. Adicionalmente, para el CAS, teniendo como objetivo analizar el porcentaje de consumo de agua con sacarina con respecto a la línea base de cada animal se empleó un ANOVA de dos vías (ver anexo).

8. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente proyecto fue dividido en las siguientes dos fases experimentales:

8.1. Fase 1

Con el fin de analizar la capacidad del BDNF para inducir incrementos de larga duración en la eficiencia sináptica de la vía Bla-CI, los grupos experimentales fueron divididos de la siguiente forma (figura 15, tabla 1):

- **Grupo VEH (n=5):** Animales que fueron sometidos al registro electrofisiológico antes descrito, este grupo recibió una microinfusión de una solución amortiguadora de fosfatos (PBS por sus siglas en inglés) (3µg/3µl; infundido a una tasa de 0.2µl/min) en la CI después de la obtención de la línea base. Una vez infundido el vehículo, el registro electrofisiológico continuó por tres horas.
- **Grupo BDNF (n=5):** Animales que fueron sometidos al registro electrofisiológico antes descrito, este grupo recibió una microinfusión aguda de BDNF en la CI (3µl; infundido a una tasa de 0.2µl/min; Alomone Labs., Jerusalén, Israel). La neurotrofina fue preparada en PBS como vehículo, inmediatamente después del

registro de la línea base (20 min). Una vez infundida la neurotrofina, el registro electrofisiológico continuó por tres horas.

- **Grupo BDNF+K252a (n=5):** Animales que fueron sometidos al registro electrofisiológico de forma similar al *grupo BDNF*, pero este grupo recibió una microinfusión aguda de BDNF en combinación con el inhibidor de los receptores Trk, K252a (3µg de BDNF/3µl de K252a 20 µM; infundidos a una tasa de 0.2µl/min; AlomoneLabs., Jerusalén, Israel). El K252a fue preparado en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO al 0.5%; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). Tras la microinfusión, el registro electrofisiológico continuó por tres horas.

8.2. Fase 2

Con el fin de analizar la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de la LTP dependiente de BDNF en la proyección Bla-CI, así como la influencia de dicha tarea conductual sobre la excitabilidad neuronal en la misma vía, los animales fueron divididos de la siguiente forma (figura 16, tabla 1):

- **Grupo H₂O+BDNF (n=8):** Animales que en condiciones similares a las descritas para el grupo *BDNF* fueron entrenados en el CAS 48 horas previas al registro electrofisiológico, en ausencia del sabor novedoso; en sustitución de la sacarina se les presentó agua, evitando la asociación sabor-malestar gástrico.
- **Grupo CAS+BDNF (n=10):** Animales que en condiciones similares a las descritas para el grupo *BDNF* fueron entrenados en el CAS 48 horas previas al registro electrofisiológico.
- **Grupo pseudoCAS+BDNF (n=9):** Animales que en condiciones similares a las descritas para el grupo *BDNF* fueron entrenados en el CAS 48 horas previas al registro electrofisiológico, en ausencia del estímulo aversivo; en sustitución del cloruro de litio se administró una inyección de PBS (vehículo), evitando la asociación sabor-malestar gástrico.

	Grupo	CAS (adquisición)	Registro Electrofisiológico	Microinfusión
Primera Fase	<i>Veh</i> (n=5)	X	✓	Buffer de fosfatos (PBS) 3 μ l a una tasa de 0.2 μ l/min
	<i>BDNF</i> (n=5)	X	✓	Factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) 3 μ l a una tasa de 0.2 μ l/min
	<i>BDNF +K252a</i> (n=5)	X	✓	BDNF + inhibidor de los receptores Trk (K252a) 3 μ l a una tasa de 0.2 μ l/min
Segunda Fase	<i>H₂O+BDNF</i> (n=8)	✓ (agua + inyección de LiCl) EI	✓	BDNF 3 μ l a una tasa de 0.2 μ l/min
	<i>CAS+BDNF</i> (n=10)	✓ (sacarina + inyección de LiCl) EC+EI	✓	BDNF 3 μ l a una tasa de 0.2 μ l/min
	<i>pseudoCAS+BDNF</i> (n=9)	✓ (sacarina + inyección de PBS) EC	✓	BDNF 3 μ l a una tasa de 0.2 μ l/min

Tabla 1. Breve descripción de la condición experimental para cada grupo en las dos fases del experimento. EC: Estimulo condicionado, EI: Estimulo incondicionado.

9. RESULTADOS

9.1. Resultados histológicos

El análisis histológico mostró que los electrodos de estimulación y de infusión-registro estuvieron correctamente colocados en el Bla y en la Cl respectivamente en todas las ratas que fueron sometidas a la fase electrofisiológica (figura 17). Aquellos animales en los que los electrodos no mostraron una adecuada ubicación, fueron excluidos del análisis experimental.

9.2. Resultados fase 1: Efecto del BDNF en la plasticidad sináptica de la vía de comunicación Bla-CI.

Los PPSEs de la corteza insular consistieron en potenciales de 0.38 ± 0.02 mV (media \pm E. E. M.) inducidos por pulsos monofásicos de 50-70 μ A de 0.25 ms de duración. Estas respuestas comenzaron a los 2-3 ms post-estimulación presentando su cresta a los 7-9 ms con una pendiente promedio de 0.17 ± 0.01 (figura 18), en concordancia con estudios previos (Escobar et al., 1998a). El BDNF produjo un incremento de los PPSE de campo en la CI que comenzó a los 20 min después de la infusión de la neurotrofina, estabilizándose después de 1 h de la microinfusión (Fig. 19, panel central). La infusión de BDNF en combinación con el K252a bloquea los incrementos inducidos por el BDNF en la eficiencia sináptica (figura 19, panel inferior). Ningún cambio fue observado en los animales control que recibieron infusiones del vehículo (figura 19, panel superior). El ANOVA para medidas repetidas de los incrementos de la pendiente de los PPSE reveló diferencias significativas entre los grupos, $F_{2, 12} = 50.72$; $p < 0.001$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas entre el grupo BDNF y el resto de los grupos ($p < 0.001$), mientras que los grupos VEH y BDNF +K252a no presentaron diferencias significativas entre sí. Adicionalmente, la prueba post-hoc de Tukey corroboró las diferencias, altamente significativas, obtenidas mediante el análisis con la prueba post-hoc de Fisher.

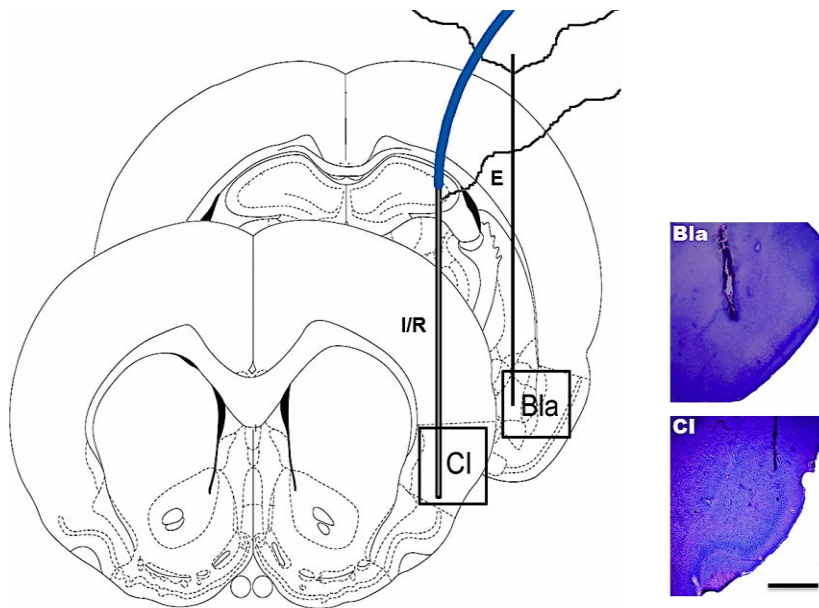


Figura 17. Ubicación de los electrodos en la proyección Bla-CI. Representación esquemática de la ubicación de los electrodos en el Bla (electrodo de estimulación, E) y en la CI (electrodo de infusión-registro, I/R), mostrando secciones coronales donde se observa la correcta colocación de los electrodos en la CI y en el Bla. Barra de escala: 1 mm.

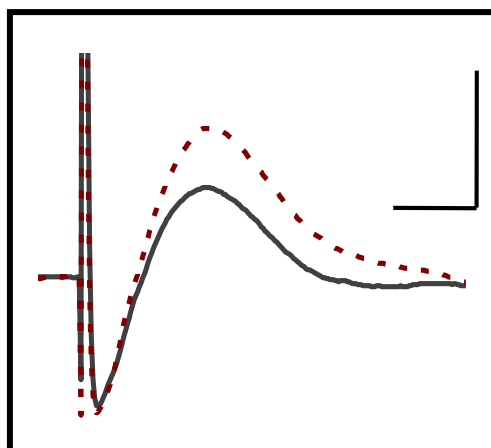


Figura 18. PPSEs en la CI. Los trazos muestran ejemplos de los PPSEs tomados 10 minutos antes (línea gris) y 180 minutos después (línea punteada) de la infusión de BDNF en la CI (escala: 5 ms, 0.7 mV).

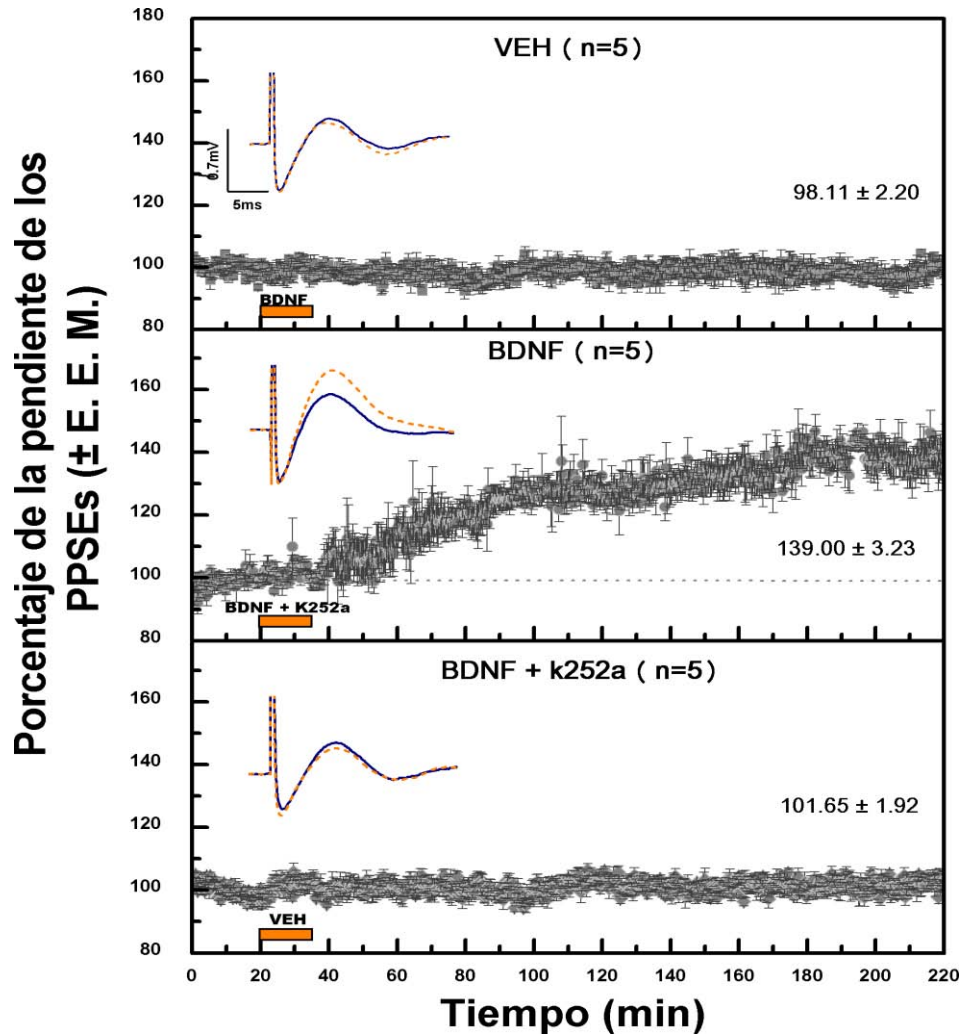


Figura 19. Efectos de la microinfusión aguda de BDNF en las respuestas de la proyección Bla-Clin vivo. Se observa el cambio porcentual de la pendiente de los PPSE de campo durante 20 minutos de línea base, seguida por la microinfusión de BDNF (panel superior). En el panel central se muestra como el inhibidor de los receptores Trk bloquea el efecto de potenciación que BDNF induce. Por último, se muestra el efecto de la sustancia vehículo (PBS) sobre la transmisión sináptica, donde no se observa ningún cambio significativo posterior a la microinfusión (panel inferior). Los trazos muestran ejemplos representativos de los PPSEs tomados 10 minutos antes (línea sólida) y 180 minutos después de la microinfusión (línea punteada). Los números al interior de cada gráfica representan la media (\pm E.S.) de la pendiente de los PPSEs después de la microinfusión para cada grupo. Las barras indican el periodo de infusión (15 min). Escala: 0.7 mV, 5 ms.

9.3. Resultados fase 2: El entrenamiento en el CAS modifica la inducción subsecuente de LTP dependiente de BDNF en la CI

9.3.1 Resultados conductuales

No se observaron diferencias significativas en el consumo de agua durante la línea base, ni en el consumo de solución sacarina durante la sesión de adquisición entre los grupos CAS+BDNF, pseudoCAS+BDNF y H₂O+BDNF (figura 20). El promedio de consumo de agua durante la línea base (\pm E. E. M.) fue de (en ml): 17.11 ± 1.30 , 19.45

± 0.75 y 21.12 ± 0.82 para los grupos H₂O+BDNF, CAS+BDNF y pseudoCAS+BDNF respectivamente. Sin embargo, el ANOVA factorial, comparando el consumo de sacarina en la prueba de aversión, mostró diferencias significativas entre los tres grupos mencionados ($F_{2,24} = 50.38$; $p < 0.001$). El análisis post-hoc empleando la prueba de Fisher indicó que el grupo CAS+BDNF presentó diferencias significativas con respecto a los grupos pseudoCAS+BDNF y H₂O+BDNF ($p < 0.001$) durante la prueba de aversión. Nótese que únicamente en el grupo en el que se asociaron los estímulos condicionado e incondicionado presentaron aversión al sabor (figura 20).

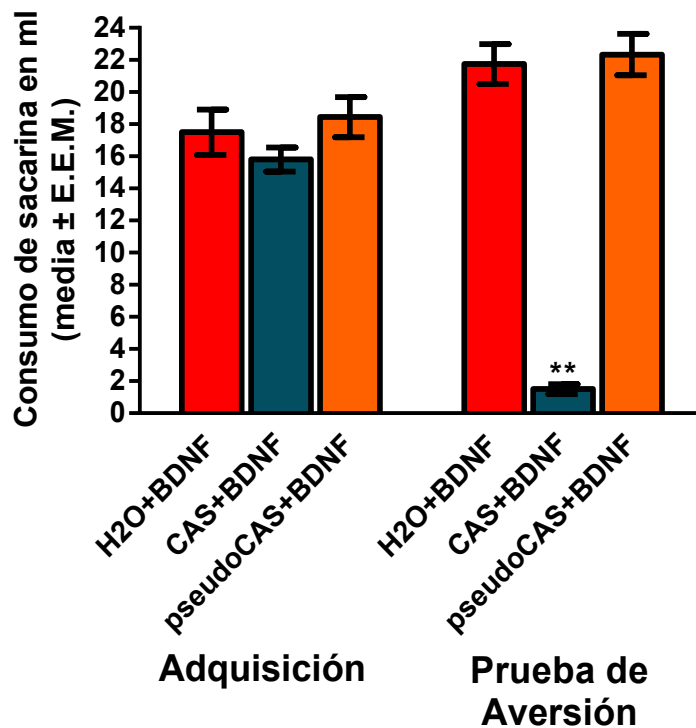


Figura 20. Consumo de sacarina durante el CAS. Consumo de sacarina en mililitros (media \pm E. E. M.) durante la sesión de adquisición y la prueba de aversión. ** $p < 0.01$.

9.3.2 Resultados electrofisiológicos:

El entrenamiento en el CAS modifica la posibilidad de inducir subsecuente plasticidad sináptica tras la infusión de BDNF en la CI.

El análisis de los resultados muestra que el entrenamiento en el CAS previene la inducción de subsecuente plasticidad sináptica en la vía Bla-CI tras la infusión de BDNF. El grupo CAS+BDNF no presentó incrementos en la eficiencia sináptica en la CI (97.83 ± 1.47) con respecto a la línea base (figura 21, panel central), a diferencia de los grupos pseudoCAS+BDNF (141.99 ± 2.14) y H₂O+BDNF (147.25 ± 1.68), los cuales presentaron LTP tras la infusión intracortical de la neurotrofina (figura 21, panel inferior superior respectivamente). El ANOVA de medidas repetidas comparando las pendientes de los PPSEs después de la infusión aguda de BDNF mostró diferencias significativas entre los tres grupos mencionados ($F_{2,24} = 90.05$; $p < 0.001$). El análisis post-hoc empleando la prueba de Fisher mostró diferencias significativas entre el grupo CAS+BDNF en comparación con los demás grupos ($p < .0001$), mientras que los grupos pseudoCAS+BDNF y H₂O+BDNF, no mostraron diferencias significativas entre sí (figura 21).

Estos resultados nos indican que el entrenamiento en el CAS inhibe la subsecuente inducción de LTP inducida por BDNF en la CI, y que dicha inhibición no es observada cuando se presenta sólo el estímulo condicionado o el incondicionado durante el entrenamiento.

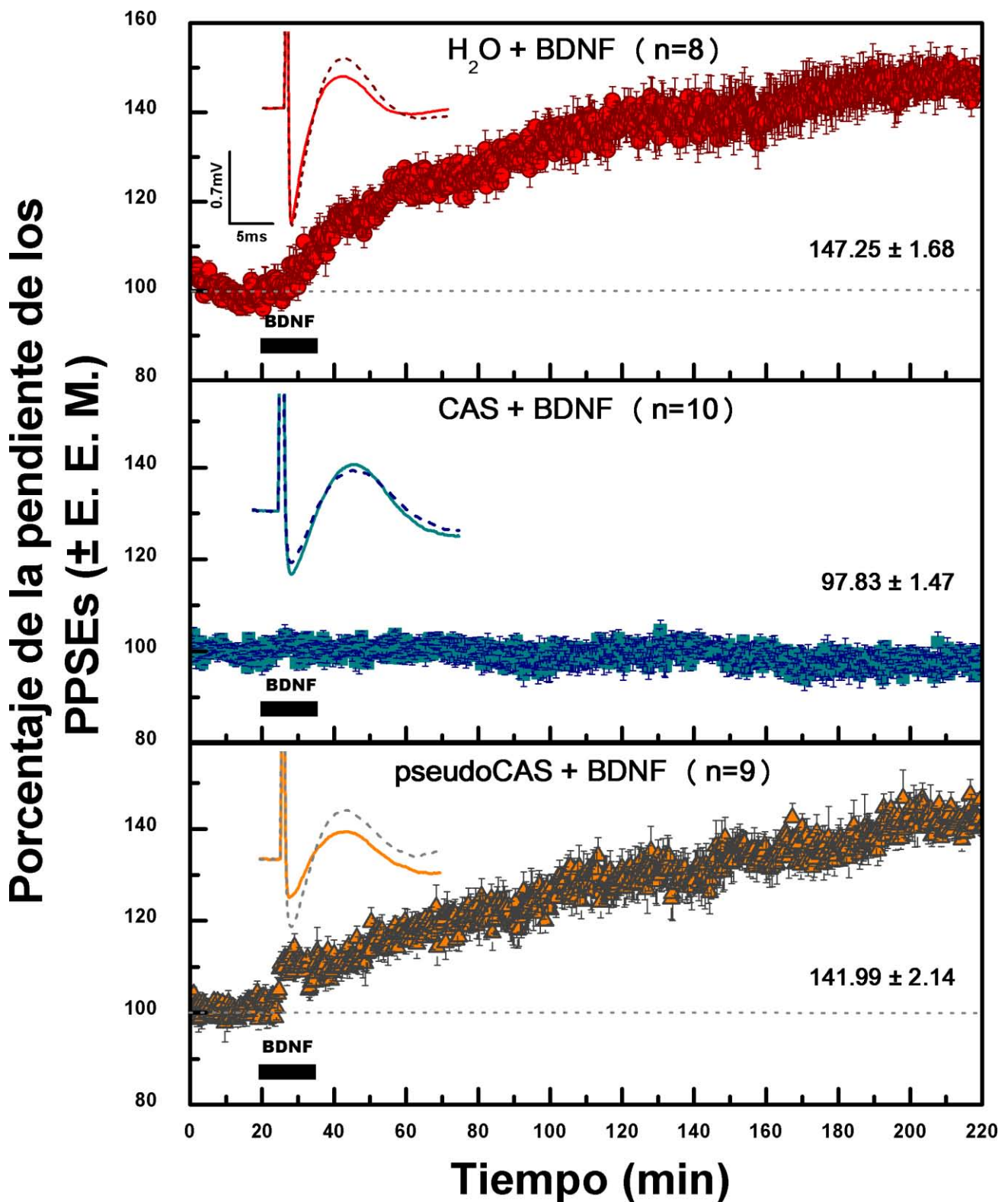


Figura 21. El entrenamiento en el CAS modifica la posibilidad de inducir LTP tras la infusión de BDNF en la CI. Gráficas donde se representa la media (\pm E.S.) del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base (100%) para cada grupo. Las barras indican el periodo de infusión (15min). Los trazos muestran ejemplos representativos de los PPSEs tomados 10 minutos antes (línea sólida) y 180 minutos después de la infusión de BDNF (línea punteada). Los números al interior de cada gráfica representan la media (\pm E.S.) de la pendiente de los PPSEs 180 minutos después de la infusión de BDNF para cada grupo. Escala: 0.7mV, 5 ms.

9.3.3 El entrenamiento en el CAS incrementa la excitabilidad de las neuronas de la proyección Bla-CI

El análisis de las curvas I/O muestra que el entrenamiento en el CAS incrementa la excitabilidad de la conexión neuronal Bla-CI. El análisis de regresión no lineal de las curvas I/O reveló diferencias significativas cuando se comparó al grupo CAS+BDNF con los grupos pseudoCAS+BDNF y H₂O+BDNF ($p < 0.001$). Esta evidencia sugiere que el CAS produce un incremento en la eficiencia sináptica de la vía Bla-CI, modificando la excitabilidad de la misma (figura 22).

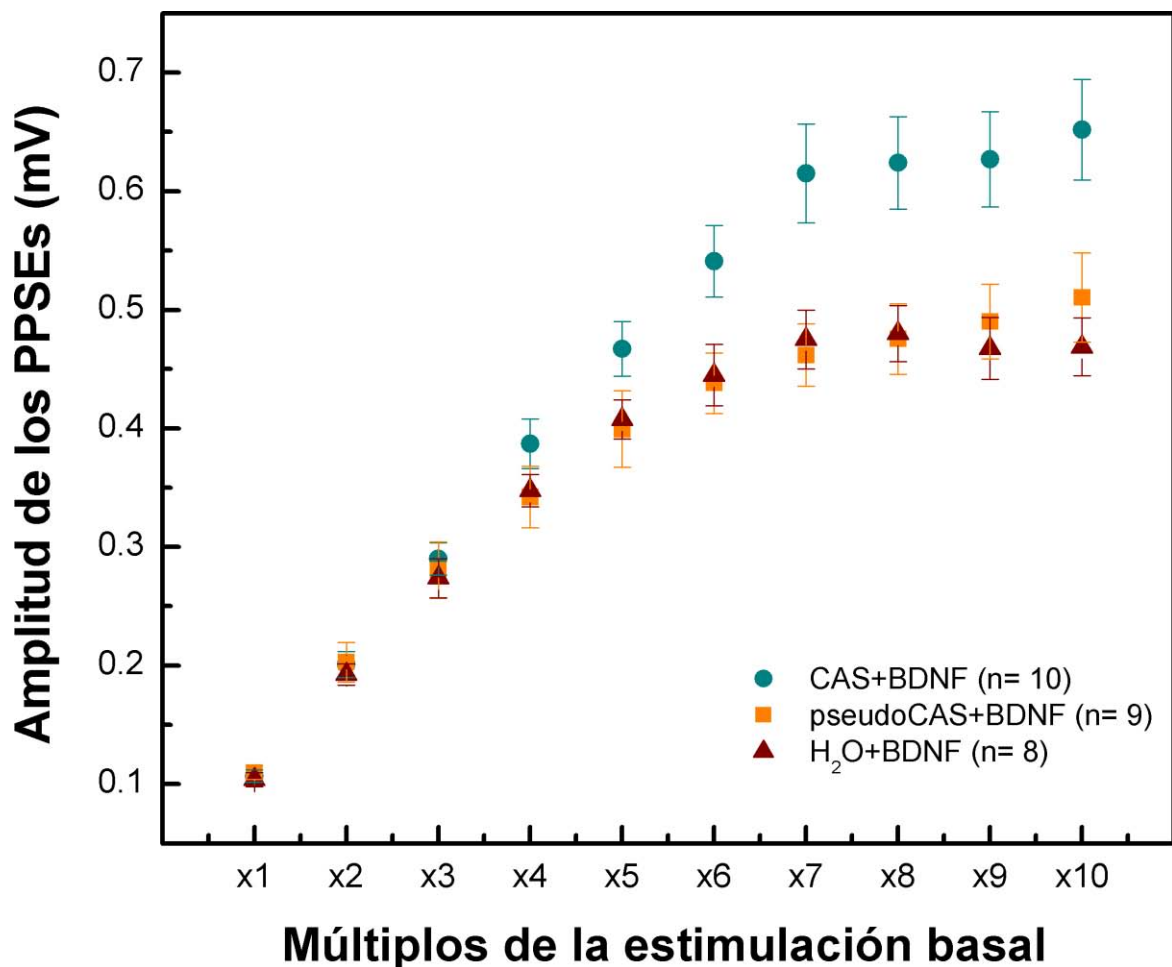


Figura 22. El CAS modifica la excitabilidad de la proyección Bla-CI. La gráfica representa la media (\pm E.E.M.) de las curvas I/O para los grupos CAS+BDNF, pseudoCAS+BDNF y H₂O+BDNF. Para construir la curva fueron utilizados múltiplos (1-10) de la intensidad basal, la cual fue determinada como la estimulación necesaria para evocar una respuesta de 0.10 mV.

10. DISCUSIÓN

El estudio de las bases celulares y moleculares que subyacen al aprendizaje y la memoria ha sido uno de los objetivos de la neurociencia cognitiva durante las últimas décadas. Gracias a esto se han logrado dilucidar algunos de los mecanismos que participan en el fortalecimiento de las conexiones sinápticas y, en consecuencia, en el almacenamiento de información (Lynch, 2004). En la actualidad, las evidencias de que las conexiones nerviosas se modifican como consecuencia de la actividad a la que han sido sometidas, se han vuelto fundamentales para explicar cómo los organismos almacenan información procedente de la interacción con su medio ambiente.

El aprendizaje es el proceso por medio del cual adquirimos información, mientras que la memoria se define como el proceso mediante el cual la información adquirida es almacenada. Estos procesos requieren de la adaptación de los circuitos cerebrales al ambiente conforme vamos adquiriendo nuevas experiencias, permitiendo almacenarlas por largos períodos y recuperarlas cuando nos son necesarias. Por ello, estos dos procesos son considerados como la base de nuestra individualidad (Kandel y Hawkins 1992).

No obstante, aunque los circuitos neuronales estén expuestos a cambios constantes, el sistema nervioso tiene la capacidad de mantener la actividad neuronal en un rango funcional. Por ello, se ha postulado que el SN posee mecanismos que modulan la plasticidad sináptica manteniendo un estado que le permitirá seguir adquiriendo información. Los cambios en la morfología y la eficiencia sináptica son ejemplos de las modificaciones versátiles que ocurren en las sinapsis como resultado de la actividad. Se ha propuesto que las formas hebbianas de plasticidad pueden requerir algunos tipos de regulación homeostática para preservar su adecuada función (Davis 2006; Nelson y Turrigiano 2008). Existen diferentes expresiones de plasticidad homeostática que permiten estabilizar la actividad neuronal a través de mecanismos que implican cambios globales en la fortaleza sináptica, cambios en la excitabilidad neuronal y una regulación de la cantidad de sinapsis manteniendo al sistema en un rango dinámico funcional para poder producir subsecuentes cambios plásticos (Nelson y Turrigiano 2008).

Se ha propuesto que las neurotrofinas actúan como reguladores clave de las modificaciones sinápticas de largo plazo relacionadas al mantenimiento del aprendizaje y la memoria (Reichardt, 2006). En particular, el BDNF ha emergido como un potente

mediador de la plasticidad sináptica estructural y funcional, expresándose predominantemente en la neocorteza y el hipocampo, regiones fundamentales para el procesamiento y almacenamiento de información, es por ello que el estudio de su participación en fenómenos de plasticidad sináptica resulta de gran relevancia. Por consiguiente y, dado que existen coincidencias entre los mecanismos celulares que permiten el almacenamiento de información y fenómenos plásticos como la LTP o la LTD (Malenka y Bear, 2004; Citri y Malenka, 2008), el presente proyecto consistió en averiguar si el condicionamiento de aversión a los sabores modula la inducción de LTP inducida por BDNF en la corteza insular, un área neocortical que es considerada como el relevo final de la vía gustativa y que se ha visto involucrada en el almacenamiento de memorias aversivas.

10.1. La infusión de BDNF modifica la eficiencia sináptica de la proyección Bla-CI

La memoria involucra cambios a corto plazo en las propiedades eléctricas y alteraciones estructurales a largo plazo en las sinapsis. El BDNF modula ambas expresiones de plasticidad sináptica, lo que sugiere que juega un papel importante en el aprendizaje y la memoria (Soule et al., 2006; Bramham, 2007; Gómez-Palacio y Escobar, 2007; Beckinschtein et al., 2007). Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la infusión intracortical de BDNF produce una potenciación de largo plazo en la vía que emerge del núcleo basolateral amigdalino hacia la corteza insular en ratas adultas anestesiadas. Estos resultados ofrecen confiabilidad a los resultados obtenidos previamente por nuestro grupo de trabajo (Escobar et al., 2003).

La potenciación observada en este estudio, se caracterizó por presentar un incremento lento de la pendiente de los PPSEs, que inició aproximadamente 20 minutos después de la infusión, estableciéndose hacia la hora post-infusión y con una duración de al menos 3 horas, lo cual concuerda con lo reportado por Escobar y colaboradores en el 2003 y por Gomez-Palacio-Schjetnan y Escobar en el 2008, en los que se mostró que el BDNF induce potenciación, con una cinética similar a la observada en el presente estudio, tanto en la vía Bla-CI como en las fibras musgosas hipocampales respectivamente (Escobar et al., 2003; Gomez-Palacio-Schjetnan y Escobar 2008).

La mayoría de las formas de LTP están caracterizadas por un cambio rápido en la magnitud de los PPSEs (Li et al., 2011; Rodríguez-Durán et al., 2011; Hunt et al., 2013). En contraste, para la potenciación de inicio lento no hay cambios en los PPSEs al momento de la inducción, pero existe un incremento gradual de la fortaleza de las conexiones sinápticas. Esta potenciación de inicio lento también ha sido observada tras la aplicación del agonista de los receptores a dopamina D1 y D5 (SKF38393) (Navakkode et al. 2007). Otras moléculas capaces de inducir este tipo de LTP son la NT-3, el carbacol y la forskolina (Wieraszko et al. 1993; Auerbach y Segal 1994; Messaoudi et al. 2002; Navakkode et al. 2007; Ramos-Languren y Escobar, 2013).

Nuestros resultados concuerdan con estudios previos en los que se han evaluado la participación del BDNF en la transmisión sináptica de circuitos corticales. En dichos estudios, la aplicación exógena de BDNF produce una potenciación de la transmisión sináptica excitatoria de la corteza visual tanto *in vivo* como *in vitro* (Akaneya et al., 1997; Carmignoto et al., 1997; Jiang et al., 2001). En estos estudios, una alta concentración de BDNF produce una potenciación aguda de la transmisión sináptica excitatoria basal (Carmignoto et al., 1997), mientras que bajas concentraciones de la neurotrofina facilitan la LTP inducida por estimulación tetánica (Akaneya et al., 1997). Cabe destacar que la LTP en la vía Bla-CI es dependiente de la activación de los receptores NMDA, por tanto se ha propuesto que dicha potenciación puede deberse a la fosforilación de estos receptores por las cascadas de señalización iniciadas por el BDNF (Lessmann, 1998).

Los efectos del BDNF en la plasticidad sináptica están ineluctablemente relacionados con la activación de su receptor TrkB. En este sentido, se ha reportado un aumento en la transcripción, el transporte y la traducción de TrkB tras la actividad de alta frecuencia capaz de inducir LTP (Pereira y Chao, 2007). La señalización BDNF/TrkB incrementa la transmisión sináptica *in vivo*, así como el aprendizaje conductual dependiente del hipocampo y de la neocorteza (Tyler y Pozzo-Miller, 2001; Messaoudi et al., 2002; Ying et al., 2002). En este sentido, nuestros resultados muestran que el incremento inducido por BDNF en la vía Bla-CI fue bloqueado por la administración conjunta de K252a (Berg 1992; Escobar et al. 2003; Gomez-Palacio-Schjetnan y Escobar 2008; Diogenes et al. 2011), un inhibidor de los receptores de tirosina cinasa que es capaz de interactuar con los receptores TrkA, TrkB y TrkC (Kase et al. 1986; Jiang et al. 2001; Lee y Chao 2001; Messaoudi et al. 2002; Ou y Gean 2006; Tamura et al. 2006; Kolarow et al. 2007). Previamente se ha reportado que la

inhibición farmacológica de los receptores Trk por K252a en dosis similares a las utilizadas en este estudio también bloquea los efectos producidos por las neurotrofinas en la plasticidad sináptica *in vivo* (Messaoudi et al. 1998, 2002; Jiang et al. 2001; Castillo et al. 2006; Ou y Gean, 2006; Gomez-Palacio-Schjetnan y Escobar, 2008; Ramos-Languren y Escobar, 2013).

10.2. El CAS modifica la capacidad de inducir LTP generada por BDNF en la proyección Bla-CI

Actualmente sabemos que la historia de actividad de las neuronas modifica la manera en que éstas responderán a futuros estímulos, dichos cambios forman parte de una serie de mecanismos llamados plasticidad homeostática, entre los que destaca la metaplasticidad (Abraham y Bear, 1996). La metaplasticidad es un cambio en la posibilidad de inducir subsecuente plasticidad sináptica (Abraham y Bear, 1996). Un efecto metaplástico se puede observar cuando la conducta modifica la posibilidad de inducir subsecuente LTP (Quinlan et al., 2004), asimismo, cuando la inducción previa de LTP es capaz de modificar la conducta. Por ello, en la segunda fase de este estudio se evaluó la influencia del aprendizaje de la tarea conductual denominada condicionamiento de aversión a los sabores, sobre la subsecuente inducción de LTP en la vía Bla-CI generada por la infusión aguda de BDNF (3µg/3µl).

El CAS es un entrenamiento conductual en el cual se asocia un estímulo gustativo con una irritación gástrica. Dicha asociación es capaz de promover modificaciones plásticas en la CI, como cambios en la actividad del gen de expresión temprana c-fos (Bernstein y Koh, 2007) o cambios en la distribución de los mapas sensoriales de la corteza gustativa en ratas (Accolla y Carleton, 2008). En conjunto, estas evidencias muestran que el entrenamiento en el CAS puede modular las propiedades de las neuronas en la CI. Los resultados del presente estudio muestran que el entrenamiento en el CAS previene la inducción subsecuente de LTP generada por la infusión de BDNF en la CI. Estos resultados coinciden con lo obtenido en estudios recientes de nuestro laboratorio, en los que se muestra que el entrenamiento en el CAS inhibe la subsecuente inducción de LTP en la CI por estimulación de alta frecuencia (Rodríguez-Durán et al., 2011). Asimismo, estudios previos de nuestro laboratorio, muestran que la inducción de LTP en la CI previa al entrenamiento en el CAS modifica la extinción de

este condicionamiento (Escobar et al., 2002). Tales resultados sugieren una coincidencia entre los mecanismos que subyacen al CAS y a la LTP de la CI.

Los resultados aquí presentados son consistentes con los mostrados por Rioult-Pedotti en 2000 y Quinlan y colaboradores en 2004, quienes observaron modificaciones en la LTP neocortical (corteza motora y olfativa, respectivamente) debidas al entrenamiento previo en una tarea conductual (Rioult-Pedotti et al., 2000; Quinlan et al., 2004). Las dos investigaciones mencionadas junto con la nuestra muestran que existe una estrecha relación entre la conducta y la expresión de LTP localizada en diferentes áreas neocorticales. Asimismo, nuestros resultados ponen de manifiesto la importancia que tiene la proyección Bla-CI para el procesamiento del CAS.

Estudios previos han reportado que el BDNF regula la excitabilidad neuronal producida por un bloqueo de la actividad (Rutherford et al., 1998; Desai et al., 1999). Además, de manera similar a nuestros resultados, Messaoudi y colaboradores (2002) reportaron que la LTP generada por estimulación de alta frecuencia en la vía que va del patrón perforante al giro dentado, es capaz de bloquear los incrementos en la eficiencia sináptica generados por la administración exógena de BDNF en concentraciones similares a las empleadas en el presente proyecto.

Actualmente se considera que la información gustativa ingresa al SN hasta alcanzar su relevo final en la CI, mientras que la información aversiva activa a la corteza insular a través de la vía amígdalo-cortical (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni et al., 2005). A este respecto se ha demostrado que la inactivación de la amígdala poco antes de la presentación del estímulo gustativo no afecta el CAS, mientras que la inactivación de esta estructura después de la presentación del estímulo gustativo o antes de la presentación del estímulo aversivo impide la inducción de dicho condicionamiento (Gallo et al., 1992). Asimismo, se ha observado que el entrenamiento en el CAS origina incrementos en la actividad glutamatérgica de la amígdala y la corteza insular (Miranda et al., 2002; Guzman-Ramos et al., 2010). Aunado a esto, el entrenamiento en el CAS modula las respuestas gustativas tanto en la amígdala como en la CI (Accolla y Carleton, 2008; Grossman et al., 2008). Nuestros resultados muestran que la proyección Bla-CI, estrechamente relacionada con la asociación de estímulos gustativos y aversivos, experimenta un incremento en el umbral para la inducción de LTP durante la formación del CAS. Dicho cambio metaplástico no es observado cuando se presentan los estímulos condicionado (sacarina) e

incondicionado (LiCl) por separado, lo cual subraya que es necesaria la asociación entre la sacarina y el malestar gástrico inducido por el LiCl para que se generen los cambios plásticos asociados al trazo de memoria del CAS.

10.2.1. El CAS produce un incremento en la excitabilidad neuronal en la vía Bla-CI

El entrenamiento en tareas conductuales puede promover un incremento en la eficiencia sináptica reflejado en una facilitación en la excitabilidad de las neuronas (McKernan y Shinnick-Gallagher, 1997; Rogan et al., 1997; Rioult-Pedotti et al., 1998; Cooke y Bear, 2010). Dicha facilitación puede ser observada a través de un aumento en las curvas entrada-salida (I/O) (Rioult-Pedotti et al., 2000; Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005; Hong et al., 2011), lo cual pone de manifiesto que la vía neuronal responde de una manera más efectiva a una estimulación determinada. Asimismo, se ha observado que una modificación en la eficiencia sináptica iniciada por el entrenamiento en tareas conductuales modifica la habilidad de inducir subsecuente plasticidad sináptica (Rioult-Pedotti et al., 2000; Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005; Cooke y Bear, 2010). Nuestra investigación revela que el CAS promueve un incremento en las curvas I/O, un resultado que concuerda con lo reportado por Rodríguez-Durán y colaboradores (2011), sugiriendo que dicho condicionamiento induce *per se* un incremento en la eficiencia sináptica de la proyección Bla-CI que se relaciona con el cambio en la posibilidad de inducir subsecuentemente LTP en la CI.

10.2.2. Posibles mecanismos moleculares

La identidad molecular que subyace a la metaplasticidad no ha sido del todo esclarecida. Como se mencionó en líneas anteriores, se ha demostrado que el entrenamiento en el CAS modifica la posibilidad de inducir LTP en la CI (Rodríguez-Durán et al., 2011), y que la inducción de LTP en dicha proyección modifica la retención del CAS (Escobar et al., 2002), lo cual sugiere que los dos fenómenos comparten mecanismos moleculares para ejercer sus acciones. El efecto metaplástico descrito en la presente investigación sugiere que el CAS modifica el umbral de modificación o θ_m , el cual determina la dirección del cambio de la eficiencia sináptica en la vía Bla-CI.

Se ha propuesto que el BDNF podría comandar algunas de las acciones esenciales que regulan la inducción de subsecuente plasticidad sináptica (Nelson y

Turrigiano 2008). Recientemente, estudios de nuestro laboratorio mostraron que el BDNF modifica la plasticidad sináptica funcional inducida por HFS en las sinapsis de las fibras musgosas in vivo (Schjetnan y Escobar, 2012). Estos resultados, junto con los del presente estudio concuerdan con los trabajos que reportan que, incluso estímulos de baja frecuencia (10Hz) pueden inhibir la inducción posterior de LTP (Fujii et al. 1991; Huang et al. 1992).

Actualmente, los receptores NMDA son considerados como unos de los principales responsables de la inducción de diversos fenómenos plásticos, debido a determinadas características como su permeabilidad al calcio y su capacidad de censar la actividad repetitiva (Voglis y Tavernarakis, 2006; Citri y Malenka, 2008). Se ha reportado que los receptores NMDA se encuentran involucrados en la inducción de diversas expresiones de plasticidad sináptica como la LTP y la LTD (Malenka y Bear, 2004; MacDonald et al., 2006; Citri y Malenka, 2008; Molnar, 2011). Además, estos receptores también se encuentran relacionados con la memoria de diversas tareas de aprendizaje, incluyendo el CAS (Escobar et al., 1998a; Bermúdez-Rattoni, 2004).

Asimismo, se ha encontrado que el receptor NMDA también juega un papel crucial en las diferentes expresiones de plasticidad homeostática como el escalamiento sináptico o la metaplasticidad. Incluso se ha reportado que la conducta promueve cambios metaplásticos que dependen de los receptores NMDA (Quinlan et al., 2004; Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2004; Rebola et al., 2011).

Una serie de experimentos llevados a cabo en la corteza visual han mostrado que en animales expuestos a la oscuridad, los umbrales de inducción de LTP y LTD son modificados, en parte debido a la modulación generada por la composición de las subunidades del receptor NMDA y a las diferentes corrientes de calcio producidas (Philpot et al. 2003; Quinlan et al. 2004). En este orden de ideas, se ha reportado que la incubación de cultivos corticales e hipocampales con BDNF, incrementa, selectivamente y de forma aguda, la fosforilación de la subunidad NR2B de los receptores NMDA, y que este incremento es dosis-dependiente (Lin et al., 1998). Asimismo, se sabe que los receptores que contienen dicha subunidad poseen una mayor resolución ante estímulos de baja frecuencia, como los que inducen LTD (Quinlan et al. 2004; Pérez-Otaño y Ehlers 2005). Adicionalmente, en un estudio realizado por Sajikumar y colaboradores en el 2011, se encontró que el BDNF participa en el mantenimiento de los cambios plásticos generados por la LTD tras la aplicación de estimulación de alta frecuencia en la misma vía (Sajikumar y Korte, 2011).

Se sabe que la inducción de LTP y el entrenamiento en tareas conductuales generan un incremento en la expresión de BDNF (Bramham et al., 1996). Este incremento en los niveles de la proteína madura podría implicar una escisión local de la proteína inmadura, pro-BDNF, en los compartimentos dendríticos. Dicho proceso de maduración de la neurotrofina es mediado por el activador tisular del plasminógeno (tPA, por sus siglas en inglés), el cual puede ser rápidamente activado dependiendo de la actividad sináptica. En este sentido, existen evidencias que indican que la inducción de LTP en el hipocampo incrementa la transcripción del tPA (Pang y Lu, 2004). De igual forma, la inhibición de la actividad tanto de BDNF como del tPA, resultan en deterioros significativos en el mantenimiento de la LTP y en la memoria de largo plazo (Pang y Lu, 2004). Interesantemente, en ausencia de la escisión, el pro-BDNF puede generar un efecto opuesto al inducido por la proteína madura, esto a través de su unión al receptor de alta afinidad para las pro-neurotrofinas, p75. Así, mientras el BDNF promueve la inducción de LTP, el pro-BDNF favorece la inducción de LTD (Lu et al., 2005; Cunha et al., 2010). Dichas evidencias sugieren la intrigante posibilidad de que la actividad previa pueda influenciar la función de BDNF al regular la escisión del pro-BDNF. En línea con lo anterior, en un estudio reciente llevado a cabo por Yeh y colaboradores (2012), se encontró que el someter a ratas a estrés prenatal genera un cambio metaplástico, el cual se ve reflejado en un decremento en la posibilidad de inducir LTP, favoreciendo la inducción de LTD en la región CA1 del hipocampo. En adición, estos cambios correlacionaron con un incremento en los niveles endógenos de pro-BDNF y un decremento en los niveles de la proteína madura. Asimismo, los sujetos sometidos a estrés prenatal presentaron un decremento significativo en la expresión y la actividad del tPA. Esto sugiere que la conversión de pro-BDNF a la forma madura de BDNF juega un rol importante en las propiedades plásticas de los circuitos neuronales, modulando el umbral para la generación de subsecuentes cambios de larga duración (Yeh et al., 2012). En este sentido, se conoce que en el condicionamiento de aversión a los sabores, el malestar gástrico producido por la administración de LiCl, genera un evento estresante en el animal (Brand et al., 2008). Dicho evento podría estar modulando el efecto metaplástico reportado en el presente estudio a través de eventos moleculares similares a los reportados por Yeh y colaboradores (2012).

Un amplio cuerpo de evidencias ha demostrado que el bloqueo genético o farmacológico de la señalización BDNF y su receptor TrkB resulta en déficit en el mantenimiento de la LTP (Korte et al., 1995; Korte et al., 1996; Patterson et al., 1996;

Patterson et al., 2001; Minichiello et al., 2002; Pang et al., 2004). Sin embargo, poco se sabe acerca de las consecuencias que tiene el incremento crónico de dicha neurotrofina; y dada la relevancia que el BDNF ha tenido en el ámbito clínico como una molécula con potencial terapéutico para el tratamiento de varios déficits cognitivos, dicho aspecto debería ser evaluado en detalle. En los pocos estudios que existen, se ha encontrado que la sobreexpresión de BDNF en el SNC induce déficits en el aprendizaje de tareas conductuales tanto instrumentales como espaciales (evitación pasiva, laberinto acuático de Morris, y laberinto radial de ocho brazos) y deterioro en la formación de memoria a corto plazo, además de incrementar la excitabilidad neuronal y la susceptibilidad a ataques epilépticos (Croll et al., 1999; Cunha et al., 2009). Estos resultados indican que un incremento crónico en la expresión de BDNF podría resultar en efectos adversos sobre el aprendizaje y la memoria; lo que resalta la necesidad de mecanismos homeostáticos que regulen los cambios inducidos por la actividad.

La señalización BDNF/TrkB desencadena cascadas moleculares de proteínas, como la de las MAPK, PLC- γ y PI3K, las cuales convergen en la activación de factores de transcripción (e.g., CREB), para inducir la expresión génica de moléculas involucradas en la plasticidad sináptica como Arc y Zif268 (Minichiello, 2009; Minichiello et al., 2002). A través de estas vías de señalización, el BDNF regula los cambios dependientes de la actividad. En relación a esto, se ha reportado que Arc, el cual es inducido rápidamente por actividad neuronal, modula la homeostasis del circuito neuronal a través del escalamiento sináptico de los receptores AMPA por medio de su interacción con la dinamina y la endofilina, proteínas que forman parte de una vía que favorece la endocitosis selectiva de dichos receptores (Chowdhury et al., 2006). Así, en ausencia de Arc o en condiciones de inactividad crónica, donde la expresión de Arc es dramáticamente reducida, se genera un cambio en la distribución de los receptores AMPA, permitiendo la inserción de estos en la membrana postsináptica. Contrario a esto, en condiciones de actividad persistente, como podría ser el proceso de adquisición, consolidación y mantenimiento de un aprendizaje como el CAS, los altos niveles de Arc son capaces de facilitar la endocitosis de tales receptores, permitiendo modular la estabilidad del circuito para preservar los trazos de memoria (Shepherd et al., 2006).

10.2.4. El BDNF como un actor molecular fundamental para la modulación metaplástica de la interacción CAS-LTP en la CI

Se ha demostrado que la CI posee un rol crucial en la adquisición, consolidación, mantenimiento y extinción del CAS en una forma dependiente de BDNF (Ma et al., 2011; Martínez-Moreno et al., 2011; Rodríguez-Serrano et al., 2014). Estudios llevados a cabo por nuestro grupo de investigación, en conjunto con los resultados obtenidos en el presente trabajo, nos permiten postular al BDNF como un actor fundamental en la modulación metaplástica de la interacción CAS-LTP en la CI.

Escobar y colaboradores (2002) demostraron que la inducción de LTP en la CI previa al entrenamiento en el CAS aumenta la retención de este condicionamiento (Escobar et al., 2002). De manera similar, la infusión aguda de BDNF en la CI previa al entrenamiento en el CAS modifica la retención de ésta tarea, a través de la activación de MAPK y PI3K en la CI (Castillo et al., 2006; Castillo y Escobar, 2011), sugiriendo que el BDNF genera un incremento en la eficiencia sináptica similar al inducido por la estimulación de alta frecuencia, dando lugar a la activación de cascadas metabólicas que convergen en la activación de CREB, permitiendo la síntesis de nuevas proteínas relacionadas con el mantenimiento de la memoria del CAS. Estudios recientes, demuestran que la infusión intracortical de BDNF es capaz de promover la extinción del CAS, mostrando que la administración exógena de BDNF incrementa el consumo de sacarina desde el primer ensayo de extinción, lo cual sugiere que la neurotrofina inicia los mecanismos relacionados con la extinción en la CI (Rodríguez-Serrano et al., 2014). Si consideramos que la extinción del CAS implica la adquisición de una nueva memoria, tales resultados concuerdan con los descritos anteriormente. Por otra parte, nuestras investigaciones han demostrado también que el entrenamiento en el CAS bloquea la posibilidad de inducir subsecuente LTP en la CI, y que dicho fenómeno es dependiente de los receptores NMDA y de la actividad diferencial de proteínas cinasas como PKA y PKC (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rodríguez-Durán y Escobar, 2014). Adicionalmente, nuestros resultados indican que el entrenamiento previo en el CAS también es capaz de prevenir la inducción de LTP generada por la infusión de BDNF en la CI. Dichos resultados nos permiten postular que el entrenamiento en el CAS modula los cambios plásticos subsecuentes en la CI, sugiriendo que los cambios metaplásticos expresados en los circuitos neuronales de la vía Bla-CI contribuyen a la formación y persistencia de memorias aversivas.

11. PERSPECTIVAS

A partir de los resultados obtenidos, se considera importante explorar de manera general los mecanismos moleculares que participan en la modulación metaplástica del CAS sobre la LTP generada por la infusión de BDNF en la CI, permitiendo dilucidar el papel diferencial que puedan ejercer diversas moléculas en la generación y el mantenimiento de dicho fenómeno. Adicionalmente, se sugiere explorar los efectos de la infusión de BDNF en la CI posterior aun protocolo de extinción del CAS.

12. CONCLUSIÓN

Los resultados derivados del presente estudio muestran que:

1. El entrenamiento en el CAS bloquea la subsecuente inducción de LTP generada por BDNF en la vía de comunicación Bla-CI.
2. El entrenamiento en el CAS incrementa la excitabilidad de las neuronas de la proyección Bla-CI, que se refleja en un incremento de las curvas I/O. Este resultado sugiere que el entrenamiento en el CAS induce un incremento en la eficiencia sináptica de la proyección Bla-CI, que a su vez modifica la posibilidad de inducir plasticidad sináptica subsecuente.
3. Y que el efecto del CAS sobre la inducción subsecuente de LTP generada por BDNF en la CI es persistente por lo menos hasta 48 horas después del entrenamiento

En resumen, nuestros resultados muestran que el entrenamiento en el CAS modifica persistentemente las propiedades sinápticas de la proyección Bla-CI, sugiriendo que los cambios en la habilidad de inducir plasticidad sináptica subsecuente contribuyen a la formación y mantenimiento de memorias aversivas.

13. REFERENCIAS

Abbott, L. F. & Nelson, S. B. (2000). Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat Neurosci* 3(Suppl): 1178–1183.

Abraham, W.C. & Bear, M.F. (1996). Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19, 126-130.

Abraham, W.C. & Hugett, A. (1997). Induction and reversal of long-term potentiation by repeated high-frequency stimulation in rat hippocampal slices. *Hippocampus* 7: 137-145.

- Abraham, W.C. (2008). Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nat Rev Neurosci* 9(5), 387.
- Accolla, R. & Carleton, A. (2008). Internal body state influences topographical plasticity of sensory representations in the rat gustatory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105(10), 4010-5.
- Akaneya, Y., Tsumoto, T., Kinoshita, S. & Hatanaka, H. (1997). Brain-derived neurotrophic factor enhances long-term potentiation in rat visual cortex. *J Neurosci* 17(17), 6707-16.
- An, S., Yang, J. W., Sun, H., Kilb, W. & Luhmann, H. J. (2012). Long-term potentiation in the neonatal rat barrel cortex in vivo. *J Neurosci* 32(28), 9511-6.
- Artola, A., & Singer, W. (1990). The involvement of N-methyl-D-aspartate receptors of induction and maintenance of long-term potentiation in rat visual cortex. *European Journal of Neuroscience* 2: 254-269.
- Artola, A., Von Frijtag, J.C., Fermont, P.C., Gispen, W.H., Schrama, L.H., Kamal, A. & Spruijt, B.M. (2006). Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioural stress and environmental enrichment. *Eur J Neurosci* 23, 261-272.
- Ascher, P., Bregestovski, P. & Nowak, L. (1988). N-methyl-D-aspartate-activated channels of mouse central neurones in magnesium-free solutions. *J Physiol* 399, 207-226.
- Auerbach, J. M. & Segal, M. (1994). A novel cholinergic induction of long term potentiation in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 72(4): 2034-40.
- Bailey, C., Giustteton, M., Huang, Y., Hawkins, R.D. & Kandel, E. (2000). Is heterosynaptic modulation essential for stabilizing hebbian plasticity and memory?. *Nature Review Neuroscience* 1: 11-20.
- Barco, A., Patterson, S., Alarcon, J. M., Gromova, P., Mata-Roig, M., Morozov, A. & Kandel, E. R. (2005). Gene expression profiling of facilitated L-LTP in VP16-CREB mice reveals that BDNF is critical for the maintenance of LTP and its synaptic capture. *Neuron*, 48(1), 123-137.
- Barros-Zulaica, N., Castejon, C. & Nuñez, A. (2014). Frequency-specific response facilitation of supra and infragranular barrel cortical neurons depends on NMDA receptor activation in rats. *Neuroscience* 281C: 178-194.
- Bear, M.F. & Kirkwood, A. (1993). Neocortical Long-term potentiation. *Current Opinion in Neurobiology* 3: 197-202.
- Bear, M.F. (1996). A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 13453-13459.

Bear, M.F. (2003). Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358, 649-655.

Bear, M.F., Connors, B.W. & Paradiso, M.A. (2001). *Neuroscience: exploring the brain*. Baltimore, Md.: Lippincott Williams & Wilkins.

Bekinschtein, P., Cammarota, M., Igaz, L. M., Bevilaqua, L. R., Izquierdo, I. & Medina, J. H. (2007). Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF-dependent phase in the hippocampus. *Neuron* 53(2), 261-77.

Bekinschtein, P., Cammarota, M., Katche, C., Slipczuk, L., Rossato, J. I., Goldin, A., Izquierdo, I. & Medina J. H. (2008). BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(7): 2711-16.

Berg, M. M., Sternberg, D. W., Parada, L. F. & Chao, M. V. (1992). K-252a inhibits nerve growth factor-induced trk proto-oncogene tyrosine phosphorylation and kinase activity. *J Biol Chem* 267(1): 13-16.

Bermúdez-Rattoni, F. & Mcgaugh, J.L. (1991). Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Res* 549, 165-170.

Bermúdez-Rattoni, F. (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nat Rev Neurosci* 5, 209-217.

Bermúdez-Rattoni, F., Nunez-Jaramillo, L. & Balderas, I. (2005). Neurobiology of taste-recognition memory formation. *Chem Senses* 30 Suppl 1, i156-157.

Bernstein, I.L. & Koh, M.T. (2007). Molecular signaling during taste aversion learning. *Chem Senses* 32, 99-103.

Bienenstock, E.L., Cooper, L.N. & Munro, P.W. (1982). Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 2, 32-48.

Bliss, T.V. & Gardner-Medwin, A.R. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232, 357-374.

Bliss, T.V. & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232, 331-356.

Boehm, J., Kang, M.G., Johnson, R.C., Esteban, J., Huganir, R.L. & Malinow, R. (2006). Synaptic incorporation of AMPA receptors during LTP is controlled by a PKC phosphorylation site on GluR1. *Neuron* 51, 213-225.

Bradley, R.M. & Mistretta, C.M. (1971). Intravascular taste in rats as demonstrated by conditioned aversion to sodium saccharin. *J Comp Physiol Psychol* 75, 186-189.

Bramham, C. R. (2007). Control of synaptic consolidation in the dentate gyrus: mechanisms, functions, and therapeutic implications. *Prog Brain Res* 163, 453-471.

Bramham, C. R., & Messaoudi, E. (2005). BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Prog Neurobiol*, 76(2), 99-125.

Bramham, C. R., Southard, T., Sarvey, J. M., Herkenham, M. & Brady, L. S. (1996). Unilateral LTP triggers bilateral increases in hippocampal neurotrophin and trk receptor mRNA expression in behaving rats: evidence for interhemispheric communication. *J Comp Neuro* 368(3): 371-82.

Brand, L., Groenewald, I., Stein, D. J., Wegener, G. & Harvey, B. H. (2008). Stress and re-stress increases conditioned taste aversion learning in rats: possible frontal cortical and hippocampal muscarinic receptor involvement. *Eur J Pharmacol* 586, 205–211.

Bures, J. & Buresova, O. (1989). Conditioned taste aversion elicited by intracerebral administration of drugs. *Acta Physiol Hung* 74, 77-93.

Calabresi, P., Napolitano, M., Centonze, D., Marfia, G.A., Gubellini, P., Teuele, M.A., Berretta, N., Bernardi, G., Frati, L., Tolú, M., & Gulino, A. (2000). Tissue plasminogen activator controls multiple forms of synaptic plasticity and memory. *European Journal of Neuroscience* 12: 1002-10012.

Carmignoto, G., Pizzorusso, T., Tia, S. & Vicini, S. (1991). Brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor potentiate excitatory synaptic transmission in the rat visual cortex. *J Physiol* 498 (Pt1): 153-164.

Carvalho, A. L., Caldeira, M. V., Santos, S. D. & Duarte C. B. (2008). Role of the brain-derived neurotrophic factor at glutamatergic synapses. *British Journal of Pharmacology* 153, S310-S324.

Castillo, D. V. & Escobar, M. L. (2011). A role for MAPK and PI-3K signaling pathways in brain-derived neurotrophic factor modification of conditioned taste aversion retention. *Behav Brain Res* 217(1): 248-52.

Castillo, D. V., Figueroa-Guzman, Y. & Escobar, M. L. (2006). Brain-derived neurotrophic factor enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Res* 1067(1): 250–55.

Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 4(4): 299-309.

Chen, T., Koga, K., Descalzi, G., Qiu, S., Wang, J., Zhang, L. S., Zhang, Z. J., He, X. B., Qin, X., Xu, F. Q., Hu, J., Wei, F., Haganir, R. L., Li, Y. Q. & Zhuo, M. (2014). Postsynaptic potentiation of corticospinal projecting neurons in the anterior cingulate cortex after nerve injury. *Mol Pain* 10, 1-16.

Chowdhury, S., Shepherd, J. D., Okuno, H., Lyford, G., Petralia, R. S., Plath, N., Kuhl, D., Haganir, R. L. & Worley, P. F. (2006). Arc/Arg3.1 interacts with the endocytic machinery to regulate AMPA receptor trafficking. *Neuron* 52(3), 445-59.

Chun, S., Bayazitov, I.T., Blundon, J.A. & Zakharenko, S.S. (2013). Thalamocortical long-term potentiation becomes gated after the early critical period in the auditory cortex. *J Neurosci* 33(17), 7345-57.

Citri, A. & Malenka, R.C. (2008). Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33, 18-41.

Clem, R.L., Celikel, T. & Barth, A.L. (2008). Ongoing in vivo experience triggers synaptic metaplasticity in the neocortex. *Science* 319, 101-104.

Clugnet, M.C., Ledoux, J.E., & Morrison, S.F. (1990). Unit responses evoked in amygdala and striatum by electrical stimulation of the medial geniculate body. *Journal of Neuroscience* 10:1055-1061.

Cohen, A.S., Coussens, C.M., Raymond, C.R. & Abraham, W.C. (1999). Long-lasting increase in cellular excitability associated with the priming of LTP induction in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 82, 3139-3148.

Cooke, S. F. & Bear, M. F. (2010). Visual experience induces long-term potentiation in the primary visual cortex. *J Neurosci* 30, 16304-16313.

Cooper, L. N. & Bear, M. F. (2012). The BCM theory of synapse modification at 30: interaction of theory with experiment. *Nat Rev Neurosci* 13(11): 798-810.

Croll, S. D., Suri, C., Compton, D. L., Simmons, M. V., Yancopoulos, G. D., Lindsay, R. M., Wiegand, S. J., Rudge, J. S. & Scharfman, H. E. (1999). Brain-derived neurotrophic factor transgenic mice exhibit passive avoidance deficits, increased seizure severity and in vitro hyperexcitability in the hippocampus and entorhinal cortex. *Neuroscience* 93:1491-1506.

Cunha, C., Angelucci, A., D'Antoni, A., Dobrossy, M. D., Dunnett, S. B., Berardi, N. & Brambilla R. (2009). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) overexpression in the forebrain results in learning and memory impairments. *NeurobiolDis* 33, 358-368.

Cunha, C., Brambilla, R. & Thomas, K. L. (2010). A Simple Role for BDNF in Learning and Memory? *Front Mol Neurosci* 3: 1-14.

Davis, G.W. (2006). Homeostatic control of neural activity: from phenomenology to molecular design. *Annu. Rev. Neurosci.*, 29: 307-23.

De Roo, M., Klausner, P., García, P. M., Poglia, L. & Muller, D. (2008). Spine dynamics and synapse remodeling during LTP and memory processes. *Prog Brain Res* 169: 199-207.

Derrick, B.E., Weinberger, S.B. & Martinez, J.L Jr. (1991). Opioid receptors are involved in a NMDA receptor-independent mechanism of LTP induction at hippocampal Mossy Fiber-CA3 synapses. *Brain Research Bulletin* 27:219-233.

Desai, N. S., Rutherford, L. C., & Turrigiano, G. G. (1999). BDNF regulates the intrinsic excitability of cortical neurons. *Learn Mem*, 6(3), 284-291.

Diogenes, M. J., Costenla, A. R., Lopes, L. V., Jerónimo-Santos, A., Sousa, V. C., Fontinha, B. M., Ribeiro, J. A. & Sebastião, A. M. (2011). Enhancement of LTP in aged rats is dependent on endogenous BDNF. *Neuropsychopharmacology* 36(9): 1823-36.

Domjan, M. (1985). Cue-consequence specificity and long-delay learning revisited. *Ann N Y Acad Sci* 443, 54-66.

Dringenberg, H.C., Oliveira, D. & Habib, D. (2008). Predator (cat hair)-induced enhancement of hippocampal long-term potentiation in rats: involvement of acetylcholine. *Learn Mem* 15, 112-116.

Eichenbaum, H. (1996). Learning from LTP: a comment on recent attempts to identify cellular and molecular mechanisms of memory. *Learn Mem* 3, 61-73.

Engert, F. & Bonhoeffer, T. (1999). Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399, 66-70.

Erreger, K., Dravid, S.M., Banke, T.G., Wyllie, D.J. & Traynelis, S.F. (2005). Subunit-specific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles. *J Physiol* 563, 345-358.

Escobar, M. L. & Bermudez-Rattoni, F. (2000). Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Res* 852, 208-212.

Escobar, M.L. & Derrick, B.(2007) Long-term potentiation and depresión as putative mechanisms for memory formation. *Neural plasticity and memory: From Genes to Brain Imaging*. Federico BermúdezRattoni. Ed. CRC Press, pp: 15-46.

Escobar, M. L. (1994). El factor de crecimiento neuronal en el sistema nervioso central. *Ciencia* 45: 21-24.

Escobar, M. L., Alcocer, I. & Bermudez-Rattoni, F. (2002). In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behav Brain Res* 129, 101-106.

Escobar, M. L., Alcocer, I. & Chao, V. (1998a). The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Res* 812, 246-251.

Escobar, M. L., Barea-Rodríguez, E., Derrik, B., Reyes, J., & Martínez, J. (1997). Opiod receptor modulation of mossy fiber synaptogenesis: independence from long-term potentiation. *Brain Research* 751: 330-335.

Escobar, M. L., Chao, V. & Bermudez-Rattoni, F. (1998b). In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Res* 779, 314-319.

Escobar, M. L., Figueroa-Guzmán Y. & Gómez-Palacio-Schjetnan A. (2003) In vivo insular cortex LTP induced by brain-derived neurotrophic factor, *Brain Research* 991: 274-279.

Escobar, M., Fernandez, J., Guevara-Aguilar, R. & Bermudez-Rattoni, F. (1989).

Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. *Brain Res* 478, 368-374.

Feldman, D. E. (2000). Timing-Based LTP and LTD at Vertical Inputs to Layer II/III Pyramidal Cells in Rat Barrel Cortex. *Neuron* 27(1), 45-56.

Feldman, D. E. (2012). The spike-timing dependence of plasticity. *Neuron* 75, 556–571.

Fu, M., Yu, X., Lu, J. & Zuo, Y. (2012). Repetitive motor learning induces coordinated formation of clustered dendritic spines in vivo. *Nature* 483:92–95.

Fujii, S., Saito, K., Miyakawa, H., Ito, K. & Kato, H. (1991). Reversal of long-term potentiation (depotential) induced by tetanus stimulation of the input to CA1 neurons of guinea pig hippocampal slices. *Brain Res* 555(1): 112–22.

Gallo, M., Roldan, G. & Bures, J. (1992). Differential involvement of gustatory insular cortex and amygdala in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion in rats. *Behav Brain Res* 52, 91-97.

Gambino, F., Pagès, S., Kehayas, V., Baptista, D., Tatti, R., Carleton, A. & Holtmaat, A. (2014). Sensory-evoked LTP driven by dendritic plateau potentials in vivo. *Nature* 515(7525), 116-9.

Garcia, J. & Koelling, R.A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science* 4, 123-124.

Garcia, J., Kimeldorf, D.J. & Koelling, R.A. (1955). Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science* 122, 157-158.

Garcia, J., Lasiter, P.S., Bermudez-Rattoni, F. & Deems, D.A. (1985). A general theory of aversion learning. *Ann N Y Acad Sci* 443, 8-21.

Gerfen, C.R. & Clavier, R.M. (1979). Neural inputs to the prefrontal agranular insular cortex in the rat: horseradish peroxidase study. *Brain Res Bull* 4, 347-353.

Gómez-Palacio-Schjetnan, A. & Escobar, M. L. (2007). Codificación y retención de la memoria: el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en la plasticidad sináptica. *Rev Neurol* 44(7), 409-417.

Gomez-Palacio-Schjetnan, A. & Escobar, M. L. (2008). In vivo BDNF modulation of adult functional and morphological synaptic plasticity at hippocampal mossy fibers. *Neurosci Lett* 445(1): 62-7.

- Gómez-Palacio-Schjetnan, A. & Escobar, M. L. (2013) Neurotrophins and synaptic plasticity. *Curr Top Behav Neurosci* 15:117–136.
- Grossman, S.E., Fontanini, A., Wieskopf, J.S. & Katz, D.B. (2008). Learning-related plasticity of temporal coding in simultaneously recorded amygdala-cortical ensembles. *J Neurosci* 28, 2864-2873.
- Gutiérrez, R., Téllez, L. A. & Bermúdez-Rattoni, F. (2003). Blockade of cortical muscarinic but not NMDA receptors prevents a novel taste from becoming familiar. *European Journal of Neuroscience*. 17, 1556-1562.
- Guzman-Ramos, K., Osorio-Gomez, D., Moreno-Castilla, P. & Bermudez-Rattoni, F. (2010). Off-line concomitant release of dopamine and glutamate involvement in taste memory consolidation. *J Neurochem* 114, 226-236.
- Han, J. H., Kushner, S. A., Yiu, A. P., Cole, C. J., Matynia, A., Brown, R. A., Neve, R. L., Guzowski, J. F., Silva, A. J. & Josselyn, S. A. (2007). Neuronal competition and selection during memory formation. *Science* 316, 457–460.
- Han, J. H., Kushner, S. A., Yiu, A. P., Hsiang, H. L., Buch, T., Waisman, A., Bontempi, B., Neve, R. L., Frankland, P. W. & Josselyn, S. A. (2009). Selective erasure of a fear memory. *Science* 323, 1492–1496.
- Hartmann, M., Heumann, R. & Lessmann, V. (2001). Synaptic secretion of BDNF after high-frequency stimulation of glutamatergic synapses. *EMBO J* 20(21), 5887-97.
- Hebb, D. (1949). The organization of behavior. *Theor. Biol.* 2: 204-35.
- Hirsch, J.C. & Crepel, F. (1990) Use-dependent changes in synaptic efficacy in the rat prefrontal neurons in vitro. *Journal of Physiology* 427: 32-49.
- Hofer, S. B., Mrcic-Flogel, T. D., Bonhoeffer, T. & Hübener, M. (2009). Experience leaves a lasting structural trace in cortical circuits. *Nature* 457:313-317.
- Hong, I., Kim, J., Lee, J., Park, S., Song, B., An, B., Park, K., Lee, H.W., Lee, S., Kim, H., Park, S.H., Eom, K.D. & Choi, S. (2011). Reversible plasticity of fear memory-encoding amygdala synaptic circuits even after fear memory consolidation. *PLoS One* 6, e24260.
- Huang, Y.Y., Colino, A., Selig, D.K. & Malenka, R.C. (1992). The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science* 255, 730-733.
- Jahr, C.E. & Stevens, C.F. (1987). Glutamate activates multiple single channel conductances in hippocampal neurons. *Nature* 325, 522-525.
- Je, H. S., Yang, F., Zhou, J. & Lu, B. (2006). Neurotrophin 3 induces structural and functional modification of synapses through distinct molecular mechanisms. *J CellBio* 175(6): 1029-42.

Jedlicka, P. (2002). Synaptic plasticity, metaplasticity and BCM theory. *Bratisl Lek Listy* 103, 137-143.

Jiang, B., Akaneya, Y., Ohshima, M., Ichisaka, S., Hata, Y., & Tsumoto, T. (2001). Brain-derived neurotrophic factor induces long-lasting potentiation of synaptic transmission in visual cortex in vivo in young rats, but not in the adult. *Eur J Neurosci*, 14(8), 1219-1228.

Jiang, B., Treviño, M. & Kirkwood, A.(2007). Sequential development of long-term potentiation and depression in different layers of the mouse visual cortex. *JNeurosci* 27(36), 9648-52.

Jones, M.W., French, P.J., Bliss, T.V. & Rosenblum, K. (1999). Molecular mechanisms of long-term potentiation in the insular cortex in vivo. *J Neurosci* 19, RC36.

Jones, R. (2013). What a coincidence! *Knowing Neurons*. Recuperado de <http://knowingneurons.com/2013/05/30/what-a-coincidence/>

Kandel, E. (2001). The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses, *Science* 294: 1030-1038.

Kandel, E. R. & Hawkins, R. D. (1992). The biological basis of learning and individuality. *Sci Am* 267(3): 78-86.

Kang, H. & Schuman, E. M. (1995). Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science* 267(5204): 1658-62.

Kanter, E. D. & Haberly, L. B. (1993). Associative long-term potentiation in piriform cortex slices requires GABAA blockade. *JNeurosci* 13(6), 2477-82.

Kase, H., Iwahashi, K. & Matsuda, Y. (1986). K-252a, a potent inhibitor of protein kinase C from microbial origin. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 39(8): 1059-65.

Kelleher, R. J. 3rd, Govindarajan, A., Jung, H. Y., Kang, H. & Tonegawa, S. (2004). Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory. *Cell* 116(3): 467-79.

Kinomura, S., Kawashima, R., Yamada, K., Ono, S., Itoh, M., Yoshioka, S., Yamaguchi, T., Matsui, H., Miyazawa, H., Itoh, H. & Et Al. (1994). Functional anatomy of taste perception in the human brain studied with positron emission tomography. *Brain Res* 659, 263-266.

Kirkwood, A., Lee, H., & Bear, M.F. (1995). Co-regulation of long-term potentiation and experience-dependent synaptic plasticity in visual cortex by age and experience. *Nature* 375:328-331.

- Kitagawa, H., Inoue, K., Nishida, A., Nishimura, Y., Yamamoto, T. & Nishimura, Y. (2004). NMDA receptor-dependent long-term potentiation is dependent on low-voltage-activated calcium currents in the sensorimotor cortex of cats. *Brain Res* 1008, 116-119.
- Kolarow, R., Brigadski, T. & Lessmann, B. (2007). Postsynaptic secretion of BDNF and NT-3 from hippocampal neurons depends on calcium calmodulin kinase II signaling and proceeds via delayed fusion pore opening. *J Neurosci* 27(39): 10350-64.
- Komatsu, Y., Fuji, K., Maedan, J., Sakaguchi, H., & Tomaya, K. (1988). Long-term potentiation of synaptic transmission in kitten visual cortex. *Journal of Neurophysiology* 59: 24-141.
- Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H. & Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(19): 8856-60.
- Korte, M., Griesbeck, O., Gravel, C., Carroll, P., Staiger, V., Thoenen, H., & Bonhoeffer, T. (1996). Virus-mediated gene transfer into hippocampal CA1 region restores long-term potentiation in brain-derived neurotrophic factor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:12547-12552.
- Lamprecht, R., & LeDoux, J. (2004). Structural plasticity and memory. *Nat Rev Neurosci* 5(1), 45-54.
- Lasiter, P.S., Deems, D.A., Oetting, R.L. & Garcia, J. (1985). Taste discriminations in rats lacking anterior insular gustatory neocortex. *Physiol Behav* 35, 277-285.
- LeDoux, J.E. (1993). Emotional memory: in search of systems and synapses. *Ann N Y Acad Sci* 702, 149-157.
- Lee, F. S. & Chao, M. V. (2001). Activation of Trk neurotrophin receptors in the absence of neurotrophins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(6): 3555-60.
- Lee, S.M., Wisskopf, M.G. & Ebner, F.F., (1991) Horizontal long-term potentiation of responses in rat somatosensory cortex. *Brain Research* 544: 303-310.
- Lessmann, V. & Brigadski, T. (2009). Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: an update. *Neurosci Res* 65(1), 11-22.
- Lessmann, V. (1998). Neurotrophin-dependent modulation of glutamatergic synaptic transmission in the mammalian CNS. *Gen Pharmacol*, 31(5), 667-674.
- Lessmann, V., Gottmann, K. & Malsangio, M. (2003). Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog Neurobiol* 69(5), 341-74.
- Lin, S. Y., Wu, K., Levine, E. S., Mount, H. T., Suen, P. C. & Black, I. B. (1998). BDNF acutely increases tyrosine phosphorylation of the NMDA receptor subunit 2B in cortical and hippocampal postsynaptic densities. *Mol Brain Res* 55:20-27.

- Lisman, J.E. & Zhabotinsky, A.M. (2001). A model of synaptic memory: a CaMKII/PP1 switch that potentiates transmission by organizing an AMPA receptor anchoring assembly. *Neuron* 2: 191-201.
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P. T., Puryear, C. B., Govindarajan, A., Deisseroth, K. & Tonegawa, S. (2012). Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* 484, 381-5.
- Lømo, T. (1966). Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. *Acta Physiol. Scand.*, 128.
- Losi, G., Prybylowski, K., Fu, Z., Lou, J.H., & Vicini, S. (2002). Silent synapses in developing cerebellar granule neurons. *Journal of Neurophysiology* 87: 1263-1270.
- Lu, B., Pang, P. T. & Woo, N. H. (2005). The ying and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci* 6(8): 603-14.
- Lu, Y., Christian, K. & Lu, B. (2008). BDNF: a key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? *Neurobiol Learn Mem* 89(3), 312-23.
- Lynch, M.A. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84, 87-136.
- Ma, L., Wang, D. D., Zhang, T. Y., Yu, H., Wang, Y., Huang, S. H., Lee, F. S. & Chen, Z. Y. (2011). Region-specific involvement of BDNF secretion and synthesis in conditioned taste aversion memory formation. *J Neurosci* 31(6): 2079-90.
- Macdonald, J.F., Jackson, M.F. & Beazely, M.A. (2006). Hippocampal long-term synaptic plasticity and signal amplification of NMDA receptors. *Crit Rev Neurobiol* 18, 71-84.
- Malenka, R. & Nicoll, R. (1993). NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms, *TINS* 16: 521-527.
- Malenka, R. (2003). The long-term potential of LTP. *Nature Review Neuroscience* 4: 923-926.
- Malenka, R.C. & Bear, M.F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44, 5-21.
- Malenka, R.C. (1991). Postsynaptic factors control the duration of synaptic enhancement in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 6, 53-60.
- Mansuy, I. M. (2003). Calcineurin in memory and bidirectional plasticity. *Biochem Biophys Res Commun* 311(4): 1195-208.
- Marek, R., Coelho, C. M., Sullivan, R. K., Baker-Andresen, D., Li, X., Ratnu, V., Dudley, K. J., Meyers, D., Mukherjee, C., Cole, P. A., Sah, P. & Bredy, T. W. (2011). Paradoxical enhancement of fear extinction memory and synaptic plasticity by inhibition of the histone acetyltransferase p300. *J Neurosci* 31(20), 7486-91.

- Martínez, J. & Derrick B. (1996). Long term potentiation and learning. *Annual Review of Psychology* 47: 173-203.
- Martínez-Moreno, A., Rodríguez-Durán, L. F. & Escobar, M. L. (2011). Late Protein Synthesis-Dependent Phases in CTA Long-Term Memory: BDNF Requirement. *Front Behav Neurosci* 22, 1-6.
- Mcgaugh, J.L., Castellano, C. & Brioni, J. (1990). Picrotoxin enhances latent extinction of conditioned fear. *Behav Neurosci* 104, 264-267.
- Mckernan, M.G. & Shinnick-Gallagher, P. (1997). Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro. *Nature* 390, 607-611.
- Messaoudi, E., Bardsen, K., Srebro, B. & Bramham, C.R. (1998). Acute intrahippocampal infusion of BDNF induces lasting potentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol* 79(1): 496–99.
- Messaoudi, E., Ying, S. W., Kanhema, T., Croll, S. D. & Bramham, C. R. (2002). Brain-derived neurotrophic factor triggers transcription-dependent, late phase long-term potentiation in vivo. *J Neurosci* 22(17): 7453-61.
- Milner, B., Squire, L.R. & Kandel, E.R. (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 20, 445-468.
- Minichiello, L. (2009). TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci* 10(12), 850-60.
- Minichiello, L., Calella, A. M., Medina, D. L., Bonhoeffer, T., Klein, R., & Korte, M. (2002). Mechanism of TrkB-mediated hippocampal long-term potentiation. *Neuron* 36(1), 121-137.
- Miranda, M. I., Ferreira, G., Ramirez-Lugo, L. & Bermudez-Rattoni, F. (2002). Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 11417-11422.
- Molnar, E. (2011). Long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Semin Cell Dev Biol*.
- Monfils, M.H. & Teskey, G.C. (2004). Skilled-learning-induced potentiation in rat sensorimotor cortex: a transient form of behavioural long-term potentiation. *Neuroscience* 125, 329-336.
- Monteggia, L. M., Barrot, M., Powell, C. M., Berton, O., Galanis, V., Gemelli, T., Meuth, S., Nagy, A., Greene, R. W. & Nestler, E. J. (2004). Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function. *Proc Natl Acad Sci*, 101(29), 10827-10832.
- Moriguchi, S., Han, F., Nakagawasai, O., Tadano, T. & Fukunaga, K. (2006). Decreased calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C activities mediate

impairment of hippocampal long-term potentiation in the olfactory bulbectomized mice. *J Neurochem* 97(1), 22-9.

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.

Morrison, G. L., Fontaine, C. J., Harley, C. W. & Yuan, Q. (2013). A role for the anterior piriform cortex in early odor preference learning: evidence for multiple olfactory learning structures in the rat pup. *J Neurophysiol* 110(1), 141-52.

Moser, E.I., Krobot, K.A., Moser, M.B. & Morris, R.G. (1998). Impaired spatial learning after saturation of long-term potentiation. *Science* 281, 2038-2042.

Muellbacher, W., Ziemann, U., Boroojerdi, B., Cohen, L. & Hallett, M. (2001). Role of the human motor cortex in rapid motor learning. *Exp Brain Res* 136(4): 431-8.

Muller, J.F., Orekhov, Y., Liu, Y. & Ziemann, U. (2007). Homeostatic plasticity in human motor cortex demonstrated by two consecutive sessions of paired associative stimulation. *Eur J Neurosci* 25, 3461-3468.

Muñoz-Cuevas, F. J., Athilingam, J., Piscopo, D. & Wilbrecht, L. (2013). Cocaine-induced structural plasticity in frontal cortex correlates with conditioned place preference. *Nat Neurosci* 16:1367–1369.

Nabavi, S., Fox, R., Proulx, C. D., Lin, J. Y., Tsien, R. Y. & Malinow, R. (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511, 348-52.

Naro, A., Russo, M., Leo, A., Bramanti, P., Quartarone, A. & Calabrò, R. S. (2014). A Single Session of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Over the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Patients With Unresponsive Wakefulness Syndrome: Preliminary Results. *Neurorehabil Neural Repair* 24, 1-11.

Navakkode, S., Sajikumar, S. & Frey, J. U. (2007) Synergistic requirements for the induction of dopaminergic D1/D5-receptor-mediated LTP in hippocampal slices of rat CA1 in vitro. *Neuropharmacology* 52(7), 1547-1554.

Nelson, S. B. & Turrigiano, G. G. (2008). Strength through diversity. *Neuron* 60(3): 477-82.

Nicoll, R. & Malenka, R. (1995). Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 377 (6545): 115-118.

Nilsson, A. S., Fainzilber, M., Falck, P. & Ibáñez, C. F. (1998). Neurotrophin-7: a novel member of the neurotrophin family from the zebrafish. *FEBS Lett* 424, 285-90.

Norgren, R. & Leonard, C.M. (1971). Taste pathways in rat brainstem. *Science* 173, 1136-1139.

Norgren, R. & Leonard, C.M. (1973). Ascending central gustatory pathways. *J Comp Neurol* 150, 217-237.

Otsubo, T., Maekawa, M., Nagai, T., Sakio, H. & Hori, Y. (2008). Facilitatory effects of subanesthetic sevoflurane on excitatory synaptic transmission and synaptic plasticity in the mouse hippocampal CA1 area. *Brain Res* 1197, 32-39.

Ou, L. C. & Gean, P. W. (2006). Regulation of amygdala-dependent learning by brain-derived neurotrophic factor is mediated by extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol-3-kinase. *Neuropsychopharmacol* 31(2): 287–96.

Pang, P. T., & Lu, B. (2004). Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF. *Ageing Res Rev*, 3(4), 407-430.

Panja, D. & Bramham, C. R. (2014). BDNF mechanisms in late LTP formation: A synthesis and breakdown. *Neuropharmacology* 76 Pt C: 664-76.

Park, H. & Poo, M. M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci* 14(1): 7-23.

Patapoutian, A. & Reichardt, L.F. (2001). Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 11(3), 272-80.

Patterson, S. L., Abel, T., Deuel, T. A., Martin, K. C., Rose, J. C., & Kandel, E. R. (1996). Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron*, 16(6), 1137-1145.

Patterson, S. L., Pittenger, C., Morozov, A., Martin, K. C., Scanlin, H., Drake, C. & Kandel, E. R. (2001). Some forms of cAMP-mediated long-lasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phospho-MAP kinase. *Neuron* 32(1): 123-40.

Patz, S. & Wahle, P. (2004). Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *Eur J Neurosci* 20(3): 701-8.

Paxinos, G. & Watson, C. (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Orlando, Academic Press.

Pereira, D. B., & Chao, M. V. (2007). The tyrosine kinase Fyn determines the localization of TrkB receptors in lipid rafts. *J Neurosci*, 27(18), 4859-4869.

Pérez-Otaño, I. & Ehlers, M.D. (2005). Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci* 28, 229-238.

Philpot, B.D., Cho, K.K. & Bear, M.F. (2007). Obligatory role of NR2A for metaplasticity in visual cortex. *Neuron* 53, 495-502.

Philpot, B.D., Espinosa, J. S. & Bear, M. F. (2003). Evidence for altered NMDA receptor function as a basis for metaplasticity in visual cortex. *J Neurosci* 23(13): 5583–88.

- Pritchard, T.C., Hamilton, R.B., Morse, J.R. & Norgren, R. (1986). Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the monkey, *Macaca fascicularis*. *J Comp Neurol* 244, 213-228.
- Quinlan, E.M., Lebel, D., Brosh, I. & Barkai, E. (2004). A molecular mechanism for stabilization of learning-induced synaptic modifications. *Neuron* 41, 185-192.
- Ramos-Languren, L. E. & Escobar, M. L. (2013). Plasticity and metaplasticity of adult rat hippocampal mossy fibers induced by neurotrophin-3. *Eur J Neurosci* 37(8), 1248-59.
- Rebola, N., Carta, M., Lanore, F., Blanchet, C. & Mulle, C. (2011). NMDA receptor-dependent metaplasticity at hippocampal mossy fiber synapses. *Nat Neurosci* 14(6), 691-3.
- Reichardt, L. F. (2006). Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361(1473): 1545-64.
- Reutter, K. & Witt, M. (1993). Morphology of vertebrate taste organs and their nerve supply. In *Mechanisms of taste transduction*, eds. S.A. Simon & S.D. Roper. (Boca Raton: CRC Press), 29-82.
- Rex, C. S., Lin, C. Y., Kramár, E. A., Chen, L. Y., Gall, C. M. & Lynch, G. (2007). Brain-derived neurotrophic factor promotes long-term potentiation-related cytoskeletal changes in adult hippocampus. *J Neurosci*, 3017-29.
- Righi, M., Tongiorgi, E. & Cattaneo, A. (2000). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) induces dendritic targeting of BDNF and tyrosine kinase B mRNAs in hippocampal neurons through a phosphatidylinositol-3 kinase-dependent pathway. *J Neurosci* 20(9): 3165-74.
- Rioult-Pedotti, M.S., Friedman, D. & Donoghue, J.P. (2000). Learning-induced LTP in neocortex. *Science* 290, 533-536.
- Rioult-Pedotti, M.S., Friedman, D., Hess, G. & Donoghue, J.P. (1998). Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nat Neurosci* 1, 230-234.
- Roberts, A.C. & Glanzman, D.L. (2003). Learning in *Aplysia*: looking at synaptic plasticity from both sides. *Trends Neurosci* 26, 662-670.
- Rodríguez-Durán, L. F. & Escobar, M. L. (2014). NMDA receptor activation and PKC but not PKA lead to the modification of the long-term potentiation in the insular cortex induced by conditioned taste aversion: differential role of kinases in metaplasticity. *Behav Brain Res* 266, 58-62
- Rodríguez-Durán, L. F., Castillo, D. V., Moguel-González, M. & Escobar, M. L. (2011). Conditioned taste aversion modifies persistently the subsequent induction of neocortical long-term potentiation in vivo. *Neurobiol Learn Memory* 95(4): 519–26.

- Rodríguez-Duran, L.F., Castillo, Castillo, D. V., Moguel-González, M & Escobar, M. L. (2011). Conditioned taste aversion modifies persistently the subsequent induction of neocortical long-term potentiation in vivo. *Neurobiol Learn Memory* 95(4): 519–26.
- Rodríguez-Serrano, L. M., Ramírez-León, B., Rodríguez-Durán, L. F. & Escobar, M. L. (2014). Acute infusion of brain-derived neurotrophic factor in the insular cortex promotes conditioned taste aversion extinction. *Neurobiol Learn Mem* 116: 139-44.
- Rogan, M.T., Staubli, U.V. & Ledoux, J.E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390, 604-607.
- Rogerson, T., Cai, D. J., Frank, A., Sano, Y., Shobe, J., Lopez-Aranda, M. F. & Silva, A. J. (2014). Synaptic tagging during memory allocation. *Nat Rev Neurosci* 15(3), 157-69.
- Rose, C. R., Blum, R., Kafitz, K. W., Kovalchuk, Y., & Konnerth, A. (2004). From modulator to mediator: rapid effects of BDNF on ion channels. *Bioessays*, 26(11), 1185-1194.
- Rose, C. R., Blum, R., Pichler, B., Lepier, A., Kafitz, K. W. & Konnerth, A. (2003). Truncated TrkB-T1 mediates neurotrophin-evoked calcium signalling in glia cells. *Nature* 426(6962): 74-8.
- Ruan, H., Saur, T. & Yao, W. D. (2014). Dopamine-enabled anti-Hebbian timing-dependent plasticity in prefrontal circuitry. *Front Neural Circuits* 23(8): 38.
- Rutherford, L. C., Nelson, S. B., & Turrigiano, G. G. (1998). BDNF has opposite effects on the quantal amplitude of pyramidal neuron and interneuron excitatory synapses. *Neuron* 21 (3), 521 - 530.
- Sajikumar, S. & Korte, M. (2011). Metaplasticity governs compartmentalization of synaptic tagging and capture through brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and protein kinase Mzeta (PKMzeta). *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(6): 2551-6.
- Sanhueza, M. & Lisman, J. (2013). The CaMKII/NMDAR complex as a molecular memory. *Mol Brain* 6(10), 1-8.
- Schjetnan, A. G. & Escobar, M. L. (2012). In vivo BDNF modulation of hippocampal mossy fiber plasticity induced by high frequency stimulation. *Hippocampus* 22(1):1-8.
- Schroeder, B.W. & Shinnick-Gallagher, P. (2004). Fear memories induce a switch in stimulus response and signaling mechanisms for long-term potentiation in the lateral amygdala. *Eur J Neurosci* 20, 549-556.
- Schroeder, B.W. & Shinnick-Gallagher, P. (2005). Fear learning induces persistent facilitation of amygdala synaptic transmission. *Eur J Neurosci* 22, 1775-1783.
- Shema R., Hazvi, S., & Sacktor T.C. (2009). Boundary conditions for the maintenance of memory by PKM zeta in neocortex. *Learning and Memory*, 16: 122-128.

- Shema R., Sacktor T.C. & Dudai, Y. (2007). Rapid erasure of long-term memory associations in the cortex by an inhibitor of PKM zeta. *Science*, 17: 951-953.
- Shen, H. & Kalivas, P. W. (2013). Reduced LTP and LTD in prefrontal cortex synapses in the nucleus accumbens after heroin self-administration. *Int J Neuropsychopharmacol* 16(5), 1165-7.
- Shepherd, J. D., Rumbaugh, G., Wu, J., Chowdhury, S., Plath, N., Kuhl, D., Huganir, R. L. & Worley, P. F. (2006). Arc/Arg3.1 mediates homeostatic synaptic scaling of AMPA receptors. *Neuron* 52(3), 475-84.
- Silva, A. J., Zhou, Y., Rogerson, T., Shobe, J. & Balaji, J. (2009). Molecular and cellular approaches to memory allocation in neural circuits. *Science* 326 (5951), 391-395.
- Smith, G. B., Heynen, A. J. & Bear, M. F. (2009). Bidirectional synaptic mechanisms of ocular dominance plasticity in visual cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364, 357-367.
- Soule, J., Messaoudi, E. & Bramham, C. R. (2006) Brain-derived neurotrophic factor and control of synaptic consolidation in the adult brain. *Biochem Soc Trans* 34:600-604.
- Taattola, K.L. (2004). Review on protein kinase C family members and their activation mechanisms. In: *Proceedings of the 2nd TICSP Workshop on Computational Systems Biology, WCSB'2004*. (eds.) T. Aho, H. Lähdesmäki & O. Yli-Harja. (Silja Opera, Helsinki-St.Petersburg).
- Tamura, M., Koyama, R., Ikegaya, Y., Matsuki, N. & Yamada, M. K. (2006). K252a, an inhibitor of Trk, disturbs pathfinding of hippocampal mossy fibers. *NeuroReport* 17(5), 481-6.
- Taniike, N., Lu, Y.F., Tomizawa, K. & Matsui, H. (2008). Critical differences in magnitude and duration of N-methyl D-aspartate (NMDA) receptor activation between long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) induction. *Acta Med Okayama* 62, 21-28.
- Toni, N., Buchs, P.A., Nikonenko, I., Bron, C.R. & Muller, D. (1999). LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402, 421-425.
- Tsumoto, T. (1992). Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Prog. Neurobiol.* 39: 209-228.
- Turrigiano, G. (2011). Too many cooks? Intrinsic and synaptic homeostatic mechanisms in cortical circuit refinement. *Annu Rev Neurosci* 34, 89-103.
- Turrigiano, G. G. & Nelson, S. B. (2000). Hebb and homeostasis in neuronal plasticity. *Current opinion in neurobiology* 10, 358-364.
- Turrigiano, G. G. & Nelson, S.B. (2004). Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5, 97-107.

Turrigiano, G. G., Leslie, K. R., Desai, N. S., Rutherford, L. C & Nelson, S. B. (1998). Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 391, 892-6.

Turrigiano, G.G. (2008). The self-tuning neuron: synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell* 135, 422-435.

Tyler, W. J. & Pozzo-Miller, L.D. (2001). BDNF enhances quantal neurotransmitter release and increases the number of docked vesicles at the active zones of hippocampal excitatory synapses. *J Neurosci* 21(12): 4249-58.

Tyler, W. J., Zhang, X. L., Hartman, K., Winterer, J., Muller, W., Stanton, P. K. & Pozzo-Miller, L. (2006). BDNF increases release probability and the size of a rapidly recycling vesicle pool within rat hippocampal excitatory synapses. *J Physiol*, 574 (Pt 3), 787 - 803.

Voglis, G. & Tavernarakis, N. (2006). The role of synaptic ion channels in synaptic plasticity. *EMBO Rep* 7, 1104-1110.

Wang, J.H. & Stelzer, A. (1996). Shared calcium signaling pathways in the induction of long-term potentiation and synaptic desinhibition in CA1 pyramidal cell dendrite. *Journal of Neurophysiology* 75: 1687-1702.

Weiner, I., Tarrasch, R., Hasson, O., Forian, R., Smith, A.D., Rawlins, J.N. & Feldon, J. (1994). The effects of chronic administration of ceronapril on the partial reinforcement extinction effect and latent inhibition in rats. *Behav Pharmacol* 5, 306-314.

Wells, D.G. & Fallon, J.R. (2000). In search of molecular memory: experience-driven protein synthesis. *Cell Mol Life Sci* 57, 1335-1339.

Whitlock, J.R., Heynen, A.J., Shuler, M.G. & Bear, M.F. (2006). Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313, 1093-1097.

Wieraszko, A., Li, G., Kornecki, E., Hogan, M.V. & Ehrlich, Y.H. (1993). Long-term potentiation in the hippocampus induced by platelet-activating factor. *Neuron* 10(3), 553-557.

Woo, N. H. & Lu, B. (2009). BDNF in synaptic plasticity and memory. In: Squire L. R., ed. *Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford:135–143.

Xu, T., Yu, X., Perlik, A. J., Tobin, W. F., Zweig, J. A., Tennant, K., Jones, T. & Zuo, Y. (2009). Rapid formation and selective stabilization of synapses for enduring motor memories. *Nature* 462:915–919.

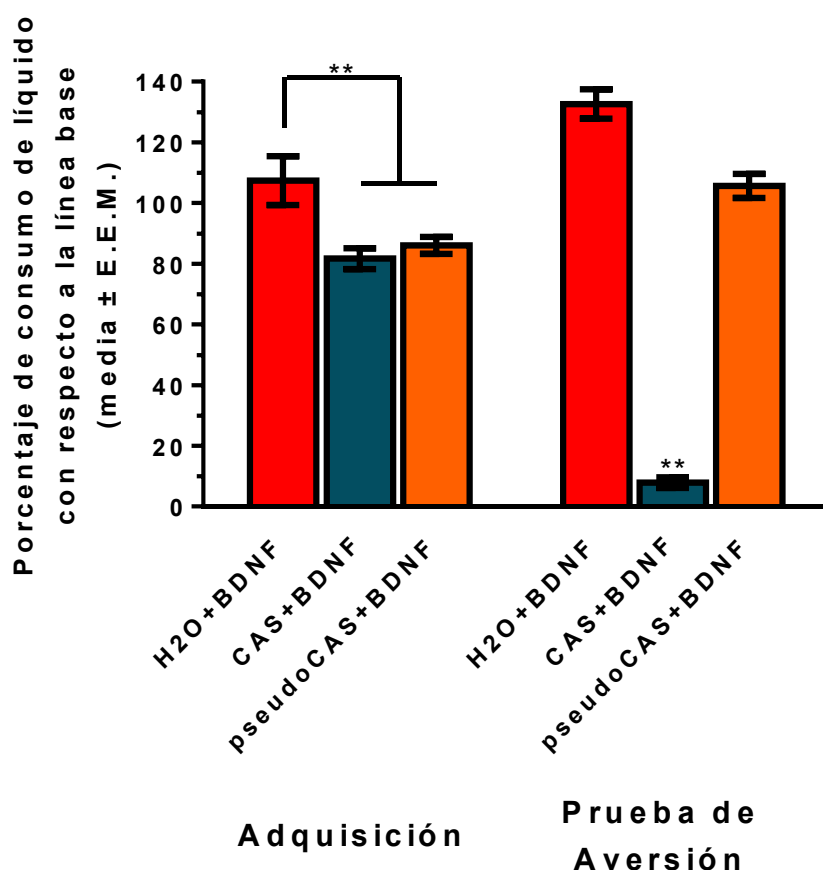
Yamada, K., Mizuno, M., & Nabeshima, T. (2002). Role for brain-derived neurotrophic factor in learning and memory. *Life Sci*, 70(7), 735-744.

Yamamoto, T., Matsuo, R., Kiyomitsu, Y. & Kitamura, R. (1989). Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *J Neurophysiol* 61, 1244-1258.

- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Azuma, S., Bai, W.Z. & Wakisaka, S. (1992). C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *Neuroreport* 3, 1049-1052.
- Yan, Q., Rosenfeld, R. D., Matheson, C. R., Hawkins, N., Lopez, O. T., Bennett, L. & Welcher, A. A. (1997). Expression of brain-derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system. *Neuroscience*, 78 (2), 431 – 448.
- Yang, G., Pan, F. & Gan, W. B. (2009). Stably maintained dendritic spines are associated with lifelong memories. *Nature* 462:920–924.
- Yang, H.W., Hu, X.D., Zhang, H.M., Xin, W.J., Li, M.T., Zhang, T., Zhou, L.J. & Liu, X.G. (2004). Roles of CaMKII, PKA, and PKC in the induction and maintenance of LTP of C-fiber-evoked field potentials in rat spinal dorsal horn. *J Neurophysiol* 91, 1122-1133.
- Yarmolinsky, D. A., Zuker C. S. & Ryba N. J. (2009). Commonsense about taste: from mammal to insects. *Cell* 139(2), 234-44.
- Yashiro, K. & Philpot, B. D. (2008). Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP, and metaplasticity. *Neuropharmacology* 55(7): 1081-94.
- Yasoshima, Y., Morimoto, T. & Yamamoto, T. (2000). Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Res* 869, 15-24.
- Yeh, C. M., Huang, C. C. & Hsu, K. S. (2012). Prenatal stress alters hippocampal synaptic plasticity in young rat offspring through preventing the proteolytic conversion of pro-brain-derived neurotrophic factor (BDNF) to mature BDNF. *J Physiol* 590 (Pt4): 991-1010.
- Ying, S. W., Futter, M., Rosenblum, K., Webber, M. J., Hunt, S. P., Bliss, T. V. & Bramham, C. R. (2002). Brain-derived neurotrophic factor induces long-term potentiation in intact adult hippocampus: requirement for ERK activation coupled to CREB and upregulation of Arc synthesis. *J Neurosci* 22, 1532-40.
- Yoshida, H., Tomita, H., Sugano, E., Isago, H., Ishiguro, S. & Tamai, M. (2008). BDNF increases the phagocytic activity in cultured iris pigment epithelial cells. *Cell Struct Funct* 33(1): 21-6.
- Zhang, L., Kirschstein, T., Sommersberg, B., Merkens, M., Manahan-Vaughan, D., Elgersma, Y. & Beck, H. (2005). Hippocampal synaptic metaplasticity requires inhibitory autophosphorylation of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II. *J Neurosci* 25(33): 7697-707.
- Zhou, Y., Won, J., Karlsson, M. G., Zhou, M, Rogerson, T., Balaji, J., Neve, R., Poirazi, P. & Silva, A. J. (2009). CREB regulates excitability and the allocation of memory to subsets of neurons in the amygdala. *Nat Neurosci* 12(11), 1438-43.

14. ANEXO

Adicionalmente, el análisis efectuado a través del ANOVA de dos vías, de la ingesta de líquido con respecto a la línea base de consumo, reveló diferencias significativas entre los tres grupos ($F_{2,24} = 114.0$; $p < 0.001$) durante la prueba de aversión. Asimismo, la prueba post-hoc de Tukey arrojó diferencias significativas para el grupo CAS+BDNF con respecto a los grupos pseudoCAS+BDNF y H₂O+BDNF ($p < 0.001$) durante la prueba de aversión. Mientras que para el consumo de agua o agua con sacarina durante la sesión de adquisición, se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo H₂O y el resto de los grupos (CAS+BDNF y pseudoCAS+BDNF). Esto se explica en función de la presencia de neofobia* en los animales que consumieron el sabor novedoso.



Porcentaje de consumo de líquido con respecto a la línea base.

* **Neofobia:** Fenómeno de rechazo innato que se presenta al consumir un sabor novedoso, caracterizado por una reducción en el consumo del mismo (Siegel, 1974; Domjan, 1977 citado por Gutiérrez et al., 2003).