



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

**REGULACIÓN METAPLÁSTICA DE LA DEPRESIÓN DE LARGO PLAZO
IN VIVO EN LA CORTEZA INSULAR, DEBIDA AL CONDICIONAMIENTO
DE AVERSIÓN AL SABOR**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
ESTEBAN URRIETA CHÁVEZ

TUTOR PRINCIPAL:
MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

COMITÉ TUTOR:
ROBERTO AGUSTÍN PRADO ALCALÁ
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
LIVIA SÁNCHEZ CARRASCO
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., ENERO 2020



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.

Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Jurado certificamos que la tesis elaborada por: Esteban Urrieta Chávez, cuyo título es: "Regulación metaplástica de la depresión de largo plazo *in vivo* en la corteza insular, debida al condicionamiento de aversión al sabor" se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firma

Presidente

Dra. Irma Yolanda del Río Portilla

Secretario (Tutor)

Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez

Vocal

Dra. Yazmín Ramiro Cortés

Suplente

Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá

Suplente

Dr. Pavel Ernesto Ruedo Orozco

Aprobado por el Comité Académico

Coordinador del Programa

Resumen

La metaplasticidad es un conjunto de procesos homeostáticos a través de los cuales las neuronas modulan su eficiencia sináptica en función de su historia de actividad previa. Hoy en día existe amplia evidencia que sugiere que la metaplasticidad contribuye al funcionamiento de las redes neuronales y procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria. A este respecto, se ha observado que el entrenamiento en diversas tareas conductuales modifica la probabilidad de inducir subsecuentes cambios en la eficiencia sináptica, tales como potenciación de largo plazo (LTP) y depresión de largo plazo (LTD). Aunado a esto, estudios previos de nuestro grupo de trabajo han mostrado que el entrenamiento en el condicionamiento de aversión al sabor (CAS) impide la posterior inducción de LTP en la proyección que va de la amígdala basolateral (BLA) a la corteza insular (CI). Asimismo, hemos reportado que la extinción de dicho aprendizaje permite la inducción, pero no el mantenimiento de la LTP en la misma vía. En este orden de ideas, se cree que la LTD es esencial para la extinción de las memorias, sin embargo, la investigación en torno a su participación en procesos metaplásticos es aún incipiente. En este sentido, un estudio reciente de nuestro grupo de investigación muestra que la inducción de LTD en la vía BLA-CI antes del entrenamiento en el CAS facilita la extinción de esta tarea. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar si el entrenamiento en el CAS modifica la expresión de la LTD *in vivo* en la proyección BLA-CI. Para ello, se entrenó a ratas en el CAS y 48h después recibieron estimulación de baja frecuencia capaz de inducir LTD en la corteza insular. Nuestros resultados muestran que el entrenamiento en el CAS impide la subsecuente inducción de LTD en la vía BLA-CI. Estos hallazgos sugieren que el CAS promueve una regulación metaplástica de los cambios de larga duración de la fuerza sináptica de la corteza insular.

Palabras clave:

Plasticidad homeostática; metaplasticidad; LTD; corteza insular; aprendizaje y memoria.

Abstract

Metaplasticity is a homeostatic process by which neurons modulate their synaptic strength depending on their previous history of activity. Accumulated evidence has proposed that metaplasticity contributes to network function and cognitive processes such as learning and memory. Accordingly, it has been observed that training in several behavioral tasks modifies the possibility to induce subsequent synaptic plasticity such as long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD). In this regard, our previous studies have shown that conditioned taste aversion (CTA) training prevents the induction of LTP in the projection from the basolateral nucleus of the amygdala to the insular cortex (BLA-IC). Likewise, we have also reported that extinction of CTA allows induction but not maintenance of LTP in the same pathway. In this order of ideas, LTD is thought to be essential for memory extinction. However, its participation on metaplastic processes is still poorly understood. Related to this, a recent study from our group showed that induction of LTD in the BLA-IC projection before CTA training facilitates the extinction of this task. The aim of the present study was to analyze whether CTA training modifies the expression of in vivo LTD in the BLA-IC projection. Thus, 48 h after CTA training animals received low frequency stimulation in order to induce IC-LTD. Our results show that CTA training prevents the subsequent induction of LTD in the BLA-IC pathway. These findings reveal that CTA elicits a metaplastic regulation of long-lasting changes in IC synaptic strength.

Keywords:

Homeostatic plasticity; metaplasticity; LTD; insular cortex; learning and memory.

Agradecimientos:

A los miembros del comité tutor: Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez, Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá y Dra. Livia Sánchez Carrasco.

A los miembros del jurado de tesis: Dra. Irma Yolanda del Río Portilla, Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez, Dra. Yazmín Ramiro Cortés, Dr. Roberto Agustín Prado Alcalá y Dr. Pavel Rueda Orozco.

A la Dra. Maricela Luna Muñoz, coordinadora del programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología).

A la M en C. Leonor Casanova Rico, la Dra. Nuri Aranda López y el resto del equipo de la Unidad de Enseñanza del Instituto de Neurobiología.

A los responsables de las unidades de videoconferencia: Lic. Juan José García (Facultad de Psicología) y Lic. Ma de Lourdes Lara Ayala (Instituto de Neurobiología).

Al personal del bioterio de la Facultad de Psicología.

Este proyecto fue realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (becario n°629372, apoyo n°478912) y del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM (IN215719).

Este proyecto de investigación se realizó bajo la dirección de la Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez en el Laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria, División de Investigación y Posgrado, Facultad de Psicología, UNAM.

Agradecimientos personales:

☞ A mis padres, Mónica y Salvador, siempre, por su cariño y por ser las dos alas que tengo.

☞ A mi amor, Ana, por tu bella compañía, tu profundo amor, tu paciencia, tu inquebrantable apoyo, tu alentador consejo y por inspirarme calma y perseverancia.

☞ A mi tutora, Martha Escobar, por su sabiduría, guía, disposición y apoyo.

☞ A mis hermanos, Beetsi, Lucía, Alfonso, Carlos, Sebastián, por su incondicional compañía.

☞ A Alejandro, Luis y Araceli por compartirme su conocimiento práctico y teórico. Alejandro, por tu amistad y por aventarme al agua para enseñarme a nadar en la ciencia.

☞ A mis compañeros de laboratorio, Alejandro, Araceli, Beatriz, Salma, Simón y Yectivani, por los buenos y los malos momentos de trabajo juntos.

☞ A las ratas y todos los animales de laboratorio, a quienes la ciencia tanto debe.

☞ A la música.

ÍNDICE

Introducción	8
1. Plasticidad hebbiana.....	10
1.1 Potenciación de largo plazo (LTP)	10
1.2 Depresión de largo plazo (LTD)	17
2. Plasticidad homeostática	25
2.1 Escalamiento sináptico.....	25
2.2 Metaplasticidad.....	26
3. El condicionamiento de aversión al sabor (CAS).....	28
3.1 Características generales.....	28
3.2 Bases fisiológicas del CAS	29
4. El CAS y su relación con la LTP y la LTD en la CI.....	31
5. Planteamiento del problema.....	34
6. Objetivos.....	34
7. Metodología	35
7.1 Sujetos	35
7.2 Entrenamiento en el CAS.....	35
7.3 Registro electrofisiológico <i>in vivo</i>	35
7.4 Curva entrada/salida (I/O).....	36
7.5 Histoquímica de Nissl	37
7.6 Análisis estadístico de datos.....	37
7.7 Diseño experimental	37
8. Resultados	39
8.1 Resultados histológicos	39
8.2 Resultados conductuales.....	40
8.3 Resultados electrofisiológicos	40
9. Discusión.....	43
10. Perspectivas.....	49
11. Conclusiones.....	49
Referencias.....	50

Glosario de abreviaturas

AMPA	Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
BCM	Bienenstock, Cooper, Munro
BLA	Núcleo basolateral de la amígdala
CA1	Región 1 del cuerno de Amón hipocampal
CA3	Región 3 del cuerno de Amón hipocampal
CaM	Proteína calmodulina activada por Ca^{2+}
CaMKII	Proteína cinasa dependiente de calcio-calmodulina tipo II
c-AMP	Adenosín monofosfato cíclico
CAS	Condicionamiento de aversión al sabor
CI	Corteza insular
CPSEm	Corrientes postsinápticas excitatorias miniatura
CREB	Proteína de unión al elemento responsivo a adenosín monofosfato
DAPK1	Proteína cinasa asociada a la muerte tipo 1
DHPG	3,5-dihidroxifenilglicina
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GluA	Subunidad del receptor AMPA
GluN	Subunidad del receptor NMDA
I-1	Proteína inhibidora 1
LiCl	Cloruro de litio
LTD	Depresión de largo plazo
LTP	Potenciación de largo plazo
NMDA	N-metil D-aspartato
mGluR	Receptor metabotrópico glutamatérgico
PKA	Proteína cinasa dependiente de adenosín monofosfato cíclico
PKC	Proteína cinasa dependiente de Ca^{2+}
PP1	Proteína fosfatasa 1
PP2B	Proteína fosfatasa 2B o Calcineurina
PPSE	Potencial postsináptico excitatorio
STDP	Plasticidad dependiente de la sincronía de disparo
θ M	Umbral de modificación de la dirección de la plasticidad sináptica

Introducción

El aprendizaje es un cambio relativamente permanente de la conducta derivado de una experiencia (McGaugh, 1973). La memoria se puede definir como la retención en el tiempo de representaciones internas adquiridas a través de la experiencia y la capacidad para reconstruir o reactivar esas representaciones en momentos posteriores (Dudai, 2007; Josselyn y Frankland, 2018).

La memoria y el aprendizaje se pueden clasificar de acuerdo con diferentes criterios. Dos de los más utilizados son el de duración (corto y largo plazo) y el de función/tipo de información (no asociativa, asociativa, de procedimiento, episódica, semántica). El proceso por el cual la memoria pasa del almacén de corto plazo al de largo plazo se denomina consolidación de la memoria (Dudai, 2004).

Desde la segunda mitad del siglo XX, el rápido desarrollo tanto de la biología molecular como de la neurociencia cognitiva ha llevado a un rápido progreso en el estudio de los mecanismos fisiológicos que subyacen a la memoria (Milner et al., 1998; Poo et al., 2016). Un muy relevante ejemplo de ello es el estudio de los procesos fisiológicos que subyacen a la consolidación de la memoria, generalmente a dos niveles de análisis: la consolidación de sistemas y la consolidación sináptica. Diferentes estructuras cerebrales tienen diferentes papeles en la memoria de corto y largo plazo. La consolidación de sistemas se refiere a la reorganización post-codificación, dependiente del tiempo, de las representaciones de la memoria de largo plazo entre circuitos cerebrales distribuidos (Dudai y Morris, 2000). Por su parte, la consolidación sináptica se refiere a la transformación de la información a una forma de largo plazo entre las sinapsis que codifican una memoria (Dudai et al., 2015). En la consolidación de sistemas tienen lugar olas recurrentes de consolidación sináptica en las estructuras involucradas en la codificación de información (Dudai et al., 2015).

Por sus características en común con la consolidación de la memoria, la potenciación de largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés) ha sido, desde hace casi medio siglo, objeto de intenso estudio y se ha establecido como el principal modelo de consolidación sináptica. Más recientemente, el proceso complementario de depresión de largo plazo (LTD, por sus siglas en inglés) ha recibido también gran atención. De

este modo, la investigación relacionada con estos procesos de plasticidad sináptica ha permitido conocer mejor los mecanismos celulares asociados a los procesos de aprendizaje y memoria (Escobar y Derrick, 2007).

A pesar de la importancia del conocimiento aportado por el estudio en profundidad de los mecanismos de plasticidad hebbiana (como la LTP y la LTD), la búsqueda por entender el aprendizaje y la memoria requiere también estudiar cómo la plasticidad sináptica es regulada homeostáticamente. Así, se denomina plasticidad homeostática al conjunto de mecanismos que mantienen la actividad neuronal en rangos dinámicos funcionales. Al respecto, se han identificado principalmente dos fenómenos: el escalamiento sináptico y la metaplasticidad, que resulta de especial interés en el presente trabajo.

La metaplasticidad es la regulación de la plasticidad sináptica en función de la actividad previa. Sus efectos pueden ser analizados a nivel de la comunicación sináptica, por ejemplo, observando el efecto de una estimulación particular sobre la expresión de un subsecuente cambio en la eficiencia sináptica. Asimismo, es posible analizar la influencia de procesos de aprendizaje sobre posteriores cambios en la eficiencia sináptica y viceversa. Para ello, se requieren paradigmas de aprendizaje simples, cuyas estructuras y vías subyacentes estén claramente identificadas. Este es el caso del condicionamiento de aversión al sabor (CAS), para el cual es fundamental la vía que va de la amígdala basolateral (BLA) a la corteza insular (CI), vía donde se han observado y estudiado la LTP y, recientemente, la LTD.

El presente trabajo es el primero en estudiar el efecto metaplástico del CAS sobre la LTD de la proyección BLA-CI *in vivo*.

1. Plasticidad hebbiana

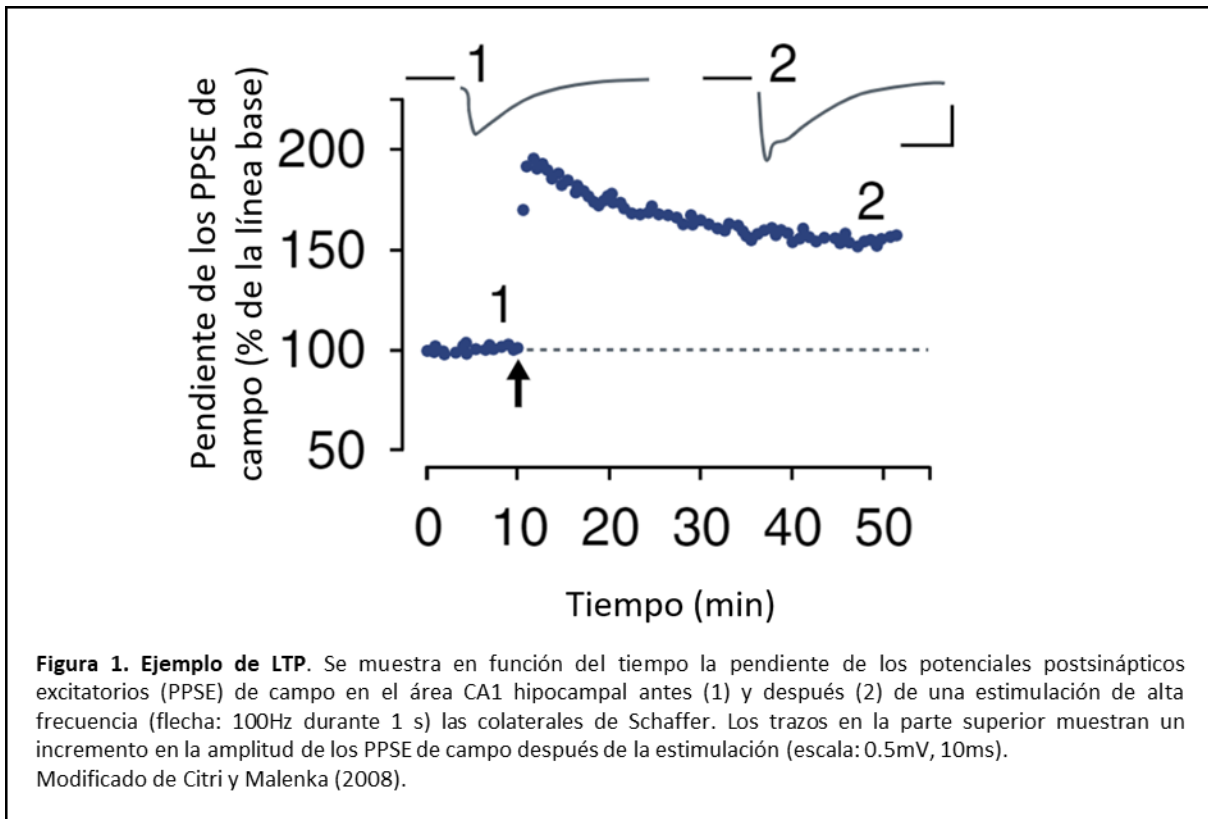
La plasticidad neural es la capacidad de cambio estructural y funcional del sistema nervioso. Constituye un conjunto de fenómenos complejos que han sido delimitados, para su análisis, en dos tipos de plasticidad: la plasticidad hebbiana y la plasticidad homeostática (Turrigiano et al. 1998; Turrigiano y Nelson, 2000; Fox y Stryker, 2017; Bridi et al., 2018). La primera se refiere a los cambios en la eficiencia sináptica dependientes de actividad en congruencia con el modelo de Donald Hebb (1949). Él propuso la hipótesis (notable, ya que no poseía evidencia experimental directa) de 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 tiene lugar en alguna de las dos células, de modo que la eficiencia en A para activar a B incrementa”, (Hebb, 1949) a lo que se denomina comúnmente como “postulado de Hebb”. Dos décadas después, se descubrió un fenómeno que es congruente con dicho postulado, la LTP, por lo que se le consideró un fenómeno “hebbiano”.

La plasticidad homeostática es el conjunto de mecanismos que permiten al sistema nervioso permanecer en un rango de funcionamiento óptimo a pesar de los cambios, por ejemplo, hebbianos, y será tratada en el apartado siguiente. A continuación, son abordados los fenómenos más representativos de la plasticidad hebbiana: la LTP y la LTD. Es importante señalar que ambos fenómenos comparten características en común.

1.1 Potenciación de largo plazo (LTP)

La LTP es un aumento persistente de la eficiencia sináptica, dependiente de actividad (figura 1). En 1973, después de una serie de experimentos, Tim Bliss y Terje Lømo describieron cómo una estimulación de alta frecuencia en la vía que va de la corteza entorrinal al giro dentado del hipocampo (denominada patrón perforante) de conejos, producía cambios en la eficiencia de la transmisión sináptica y en la excitabilidad de las células granulares, cambios que podían durar horas, días e incluso semanas. Por ello, denominaron a este fenómeno “potenciación de largo plazo”. En

1973 se conocía ya la importancia del hipocampo en la memoria, por lo que desde el descubrimiento de la LTP se supuso la relación entre ésta y el almacenamiento de información (Bliss y Lømo, 1973). El descubrimiento de este fenómeno de potenciación dio pie a décadas de investigación en el hipocampo y en otras estructuras, donde también se ha inducido LTP.



1.1.1 Presencia de la LTP en la neocorteza

A pesar de que la LTP fue descrita inicialmente en el hipocampo y la mayoría de la investigación al respecto se ha hecho en dicha estructura, se ha mostrado su presencia en numerosas vías del sistema nervioso central. En particular, el estudio de la LTP en la neocorteza resulta de gran interés para el campo de la neurociencia cognitiva puesto que la neocorteza es considerada una importante región involucrada en el almacenamiento de la memoria de largo plazo. No obstante, los trabajos encaminados al estudio de la LTP en dicha región han enfrentado una complejidad mayor.

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., 1998), de la rata (Hager et al., 2015) y del ratón (Guo et al., 2015); la corteza auditiva del ratón (Chun et al., 2013); la corteza de barriles de la rata (An et al., 2012; Barros-Zulaica et al., 2014); la corteza somatosensorial 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 (Hirsch y Crepel, 1990; Shen y Kilivas, 2013) y del ratón (Ruan et al., 2014); la corteza prefrontal infralímbica 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 la rata (Rioult-Pedotti et al., 2000); la corteza motora en el humano, a través de estimulación magnética transcraneal (Naro et al. 2014) y en la corteza insular de la rata (Escobar et al., 1998a; Jones et al., 1999).

1.1.2 Mecanismos celulares y moleculares asociados a la LTP dependiente de los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA

La LTP se traduce en tres mecanismos generales de expresión, uno presináptico y dos postsinápticos, respectivamente: aumento en la probabilidad de liberación de neurotransmisor; aumento en la conductancia individual de receptores AMPA; y aumento en la cantidad de receptores AMPA en los sitios sinápticos (Bliss et al. 2018; Diering y Huganir, 2018).

LTP (fase temprana)

La fase de inducción de la LTP se caracteriza por los cambios que no requieren de síntesis de proteínas *de novo*. El glutamato se acopla a sus receptores ionotrópicos AMPA y NMDA y promueve su apertura. En el caso de los receptores AMPA, hay una entrada inmediata de iones Na^+ . Si la despolarización local es suficiente, el ion Mg^+ que bloquea el poro de los receptores NMDA sufre electro-repulsión y esto permite la entrada de Ca^{2+} (y de Na^+). La necesidad de un evento presináptico (liberación de glutamato) y un evento postsináptico (la despolarización intracelular) le confieren al receptor NMDA la propiedad de “detector de coincidencia” (Citri y Malenka, 2008). Los iones Ca^{2+} a su vez activan a la proteína cinasa dependiente de calcio (PKC) y a la

proteína calmodulina (CaM). PKC es capaz de fosforilar las subunidades GluA1 y GluA2 de los receptores AMPA no membranales, lo que promueve su inserción en la membrana. Por otra parte, CaM activa a la proteína cinasa dependiente de calcio-calmodulina tipo II (CaMKII), que a su vez fosforila a las subunidades GluA1 de los receptores AMPA membranales, aumentando su conductancia. Adicionalmente, investigación reciente demuestra que durante la activación global de los receptores NMDA, como ocurre durante la LTP, la proteína fosfatasa 1 (PP1) desfosforila a las subunidades GluN2B de los receptores NMDA, promoviendo su movimiento hacia los sitios sinápticos de la membrana neuronal (Chiu et al., 2019).

LTP (fase tardía)

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 (Krucker et al., 2000; Fukazawa et al., 2003; Lamprecht y LeDoux, 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 GluA1, 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; Wells y Fallon, 2000; Bliss et al., 2018; Abraham et al., 2019). 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; Matsuzaki et al., 2004; Nicoll, 2017; Bliss et al., 2018).

1.1.3 LTP y conducta

Hoy en día, hay amplia y sólida evidencia de la estrecha relación entre la LTP y el aprendizaje y la memoria. La relación de este fenómeno con el procesamiento de información ha sido extensamente estudiada en el hipocampo y otras regiones del 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; Abraham et al., 2019).

El modelo de Donald Hebb buscaba explicar la relación entre la memoria de corto y largo plazo, es decir, la consolidación de la memoria. Una memoria de corto plazo constituiría una actividad reverberante de un ensamble de células interconectadas; cuando esta actividad durara suficiente, se lograría una consolidación de la información a través de un proceso que tornase las conexiones entre las sinapsis más eficientes (Bear et al., 2010). El postulado de Hebb deriva de esta hipótesis y la LTP resulta un excelente fenómeno para estudiar tal proceso. Sus muy bien descritas características de persistencia en el tiempo, cooperatividad, asociatividad y especificidad se han identificado como sólidos argumentos que apoyan la hipótesis de

que la LTP es un substrato biológico de por lo menos algunas formas de memoria (Lynch, 2004).

La cooperatividad se refiere a que existe un umbral de intensidad para la inducción de la potenciación, es decir, es necesaria la activación de suficientes fibras presinápticas simultáneamente para que la sinapsis sea potenciada (Bliss y Collingridge, 1993; Bliss et al., 2018; Nicoll, 2017).

La asociatividad representa la propiedad siguiente: si las aferencias de una sinapsis débil (que por su baja actividad no es capaz de expresar LTP) presentan actividad temporal y espacialmente cercana a las de una sinapsis fuerte (que está expresando LTP), la actividad de las segundas puede facilitar la potenciación de la sinapsis débil (Bliss y Collingridge, 1993; Bliss et al., 2018, Nicoll, 2018). Esta propiedad podría incluso ser la base sináptica del aprendizaje asociativo (Bliss et al., 2018).

Finalmente, la especificidad refleja que solamente las sinapsis donde terminan las fibras estimuladas pueden ser potenciadas; sinapsis adyacentes, incluso de la misma neurona postsináptica, no pueden ser potenciadas si no son el blanco de fibras estimuladas o no están activas al mismo tiempo (Bliss y Collingridge, 1993; Bliss et al., 2018; Citri y Malenka, 2008).

Las características anteriores son coherentes con una suposición que simplifica las condiciones necesarias para que se dé una LTP: una sinapsis es potenciada si y sólo si está activa (estimulada) al momento en que la región dendrítica respectiva está suficientemente despolarizada (Bliss y Collingridge, 1993; Nicoll, 2017).

En el mismo orden de ideas, se han considerado otras características comunes (no moleculares) a la LTP y el aprendizaje y la memoria. Entre ellas están la persistencia en el tiempo; así como el constituirse por una fase temprana y una fase tardía; características de decaimiento en común. Respecto a esta última, cabe mencionar los trabajos del grupo de Barnes, quien mostró que, en ratas, tanto el desempeño en una tarea de memoria espacial como la persistencia de la LTP decaen con el envejecimiento (Barnes, 1979; Barnes y McNaughton, 1985; Bliss et al., 2018).

Otra aproximación es la de buscar si hay aumento de la eficiencia sináptica después del aprendizaje. *In vitro*, la existencia de este fenómeno ha sido mostrada en estructuras no corticales como la amígdala (McKernan y Shinnick-Gallagher, 1997) y

corticales como la corteza motora primaria (Rioult-Pedotti et al., 2000). *In vivo*, este fenómeno se ha observado en regiones no corticales como la amígdala lateral (Rogan et al. 1997), paleocorticales como el CA1 hipocampal (Whitlock et al., 2006) y corticales como la corteza visual primaria (Cooke y Bear, 2010) y la corteza insular (Rodríguez-Durán et al., 2011).

La siguiente aproximación consiste en buscar durante el aprendizaje patrones de actividad natural similares a los patrones de estimulación que inducen LTP. Destaca el trabajo de Otto y colaboradores, quienes observaron que el patrón de actividad “theta-bursting”, óptimo para la inducción de LTP hipocampal, es característico de las células piramidales de CA1 durante tareas de aprendizaje olfativo y espacial en ratas (Otto et al., 1991). De manera más amplia, hay evidencia de que las ráfagas rítmicas de actividad que inducen LTP mimetizan el ritmo theta natural que ocurre en el hipocampo durante comportamiento exploratorio (Lynch, 2004).

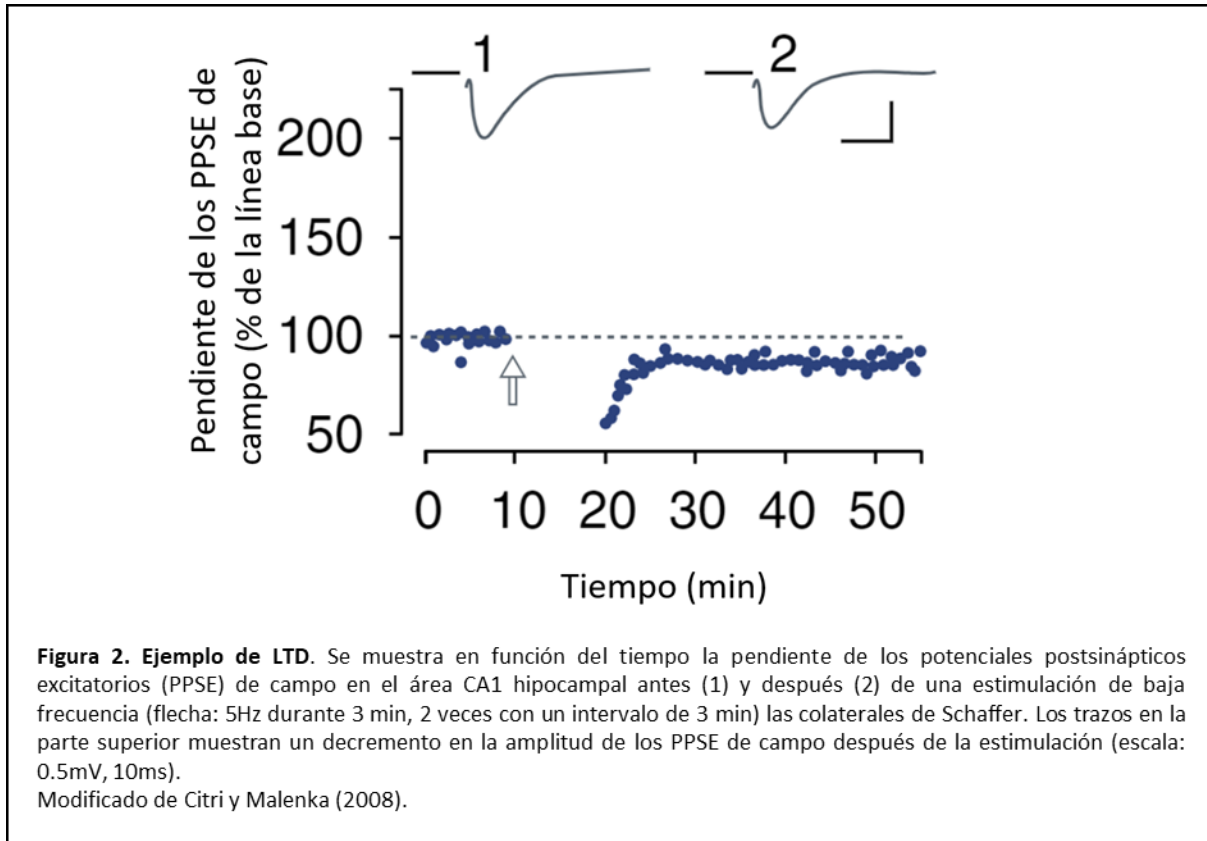
Finalmente, evidenciar mecanismos moleculares comunes al aprendizaje y la memoria y la LTP ha sido de enorme utilidad. El primer trabajo en esta dirección fue el de Morris et al. (1986), derivado de las observaciones de Collingridge acerca de la importancia de los receptores NMDA en la LTP (Collingridge et al., 1983). Este grupo mostró que bloquear la actividad de estos receptores (mediante la infusión crónica de AP5) interfería no sólo con la inducción de LTP hipocampal *in vivo*, sino también con el aprendizaje espacial en ratas.

Asimismo, Frey y colaboradores mostraron que la inhibición de la síntesis de proteínas bloquea la fase de mantenimiento de la LTP en el área CA1 *in vitro* (Frey et al., 1988). Puesto que se sabía que la consolidación de la memoria requiere de este proceso, se estableció la síntesis de proteínas como un mecanismo común a la consolidación de la memoria y la L-LTP.

Algunos otros mecanismos compartidos por al menos algunas formas o fases del aprendizaje y la memoria y la LTP son la actividad de proteínas cinasas como CaMKII, PKA y PKC (McGaugh, 2000).

1.2 Depresión de largo plazo (LTD)

El fenómeno de LTD se refiere al decremento persistente de la eficiencia sináptica, dependiente de actividad (figura 2).



Al final de la década de los 70, en el marco de la investigación del fenómeno de LTP recientemente descubierto, Lynch y colaboradores observaron que la potenciación de algunas sinapsis en una neurona podía conllevar a la depresión de otras sinapsis de la misma célula y este fenómeno fue descrito como depresión heterosináptica (Lynch et al. 1977). Por otra parte, a inicios de los ochenta, Masao Ito y sus colaboradores buscaban corroborar experimentalmente la teoría del aprendizaje motor de Marr-Albus, que se enfoca en la función que confiere la organización particular de las células de Purkinje, las fibras paralelas y las fibras trepadoras en la corteza del cerebelo. Estos dos tipos de axones hacen sinapsis en las dendritas de las células de Purkinje, por lo que se quería observar el efecto de parrear su estimulación sobre los PPSE de las células de Purkinje. Después de esta estimulación condicionante, observaron que una

estimulación basal sobre las fibras paralelas producía persistentemente una respuesta menor en las células de Purkinje (Ito et al., 1982).

A partir de esas observaciones se acuñó el término de depresión de largo plazo y se comenzó a estudiar como expresión de plasticidad sináptica. Una década después, Dudek y Bear reportaron por primera vez una LTD dependiente de los receptores NMDA en el hipocampo (Dudek y Bear, 1992).

1.2.1 Características generales y tipos de LTD

De manera similar a la LTP, existen varias formas de LTD, que se expresan a través de mecanismos moleculares distintos (Collingridge et al., 2010). Por ejemplo, existen diferencias respecto del estado sináptico previo a la inducción de LTD. Cuando una LTD ocurre de manera posterior a una potenciación, se le denomina depotenciación, en tanto que, al ser inducida desde un estado basal, se le denomina comúnmente LTD *de novo* (Dudek y Bear, 1992; Collingridge et al., 2010).

También se pueden distinguir tipos de LTD en función del protocolo para su inducción. Los protocolos utilizados típicamente consisten en estimulación prolongada de baja frecuencia, o sea ≈ 900 estímulos a 1Hz (Dudek y Bear, 1992). No obstante, la frecuencia, cantidad y tipo de estímulos (por ejemplo, trenes en lugar de pulsos individuales), óptimos para inducir LTD son variables de región a región. Otros protocolos de inducción consisten en parear la estimulación basal con la despolarización en registros tipo “whole cell”. También existen protocolos con potenciales de acción antidrómicos, que producen LTD del tipo plasticidad dependiente de la sincronía de disparo (STDP-LTD). Existen asimismo protocolos capaces de inducir LTD estructural mediada por receptores glutamatérgicos de tipo metabotrópico (mGluR) 1 o NMDA (Oh et al., 2013; Ramiro-Cortés et al., 2013). Finalmente, existen protocolos de inducción de LTD química, donde se administran agonistas de los receptores sinápticos, por ejemplo, 3,5-dihidroxifenilglicina (DHPG), agonista del receptor mGluR1 (Collingridge et al., 2010).

Otra distinción importante radica en la expresión de LTD homosináptica y LTD heterosináptica. La primera se refiere a que la depresión sucede en las sinapsis de las aferentes estimuladas, por lo que se entiende como específica al input. La segunda

sucede en sinapsis de aferentes que no fueron estimuladas, pero que están relacionadas a procesos plásticos (de potenciación o de depresión) en sinapsis vecinas (Collingridge et al., 2010).

Finalmente, la LTD se puede clasificar de acuerdo con el tipo de receptor que la induzca. La mayoría de las sinapsis capaces de presentar LTD emplean al glutamato como neurotransmisor (Collingridge et al., 2010), por lo que se considera generalmente a la LTD dependiente de receptores NMDA y la dependiente de receptores mGlu. Existe evidencia de que ambos tipos pueden coexistir en una misma sinapsis (Oliet et al., 1997). En el presente trabajo se hace énfasis en la LTD dependiente de receptores NMDA.

Cabe mencionar que los criterios de clasificación anteriores son válidos también para el fenómeno de LTP.

Mecanismos celulares y moleculares asociados a la LTD

De manera similar al caso de la LTP, la expresión de la LTD refleja cambios en la liberación de neurotransmisor, en la conductancia individual de receptores y/o en la proporción de receptores en el espacio membranal sináptico (Huganir y Nicoll, 2013).

En este sentido, existe evidencia de decrementos en la liberación de glutamato implicados en la LTD tanto dependiente de receptores NMDA (Stanton et al., 2003) como de mGluR (Foy et al., 1987). Asimismo, existe amplia evidencia experimental que demuestra la disminución en la conductancia de los receptores AMPA, así como en su proporción en las densidades post-sinápticas, durante la expresión de LTD (Lüthi et al., 2004; Kim et al., 2007; Huganir y Nicoll, 2013; Zhou et al., 2018; Diering y Huganir, 2018).

Los mecanismos de inducción de LTD dependiente de receptores NMDA son bastante similares a los descritos para la LTP, es decir, se requiere la liberación de glutamato y la despolarización postsináptica para propiciar la entrada de Ca^{2+} a la postsinapsis (figura 3). Sin embargo, un factor fundamental para determinar la dirección del fenómeno plástico (potenciación o depresión) es la magnitud del incremento de la concentración intracelular de Ca^{2+} . La LTD requiere incrementos moderados de Ca^{2+} (\approx

1 μ M), mientras que la LTP requiere incrementos superiores (>5 μ M) (Citri y Malenka, 2008; Bear et al., 2016).

De manera tradicional, se considera que las cascadas de señalización implicadas en la LTP y en la LTD implican la participación preferencial de proteínas cinasas y fosfatasas, respectivamente (Citri y Malenka, 2008). Uno de los actores esenciales para la expresión de LTD es la proteína fosfatasa dependiente de calcio-calmodulina tipo 2B, también llamada calcineurina o proteína fosfatasa 2B (PP2B). Esta fosfatasa tiene una afinidad por calcio-calmodulina mayor que la cinasa CaMKII, por lo que, cuando el incremento de Ca²⁺ es moderado, se activa preferencialmente la fosfatasa, en tanto que mayores incrementos en las concentraciones de este ion activan a CaMKII, cuya actividad predomina sobre la de calcineurina (Citri y Malenka, 2008; Kandel et al. 2013).

Otra fosfatasa importante en la expresión de LTD es la proteína fosfatasa 1 (PP1), que comparte con PKA el substrato Ser 845 de la subunidad GluA1 de los receptores AMPA. Durante la LTD, su desfosforilación disminuye la probabilidad de apertura del canal e inhibe la inserción o retención de GluA1 en la membrana celular (Diering y Huganir, 2018; figura 3).

Investigaciones recientes sugieren que las concentraciones de Ca²⁺ tienen implicaciones no solo sobre la activación diferencial de cinasas y fosfatasas sino también sobre los residuos de aminoácidos sobre los que éstas actúan, desencadenando procesos opuestos generados por un mismo actor molecular. En efecto, Coultrap y colaboradores mostraron que la actividad de CaMKII (más específicamente, su autofosforilación en el residuo Thr 286), es necesaria para la expresión de LTD dependiente de los receptores NMDA en el área CA1 del hipocampo. Además, de manera interesante, sus resultados indican que CaMKII tiene dos substratos posibles en la misma subunidad GluA1 en función del tipo de actividad a la que la postsinapsis sea sometida. Así, la fosforilación del residuo Ser 831 se favorece cuando la estimulación es fuerte y breve, promoviendo la inducción de LTP; alternativamente, si la estimulación es moderada y prolongada como aquella capaz de generar LTD, se favorece la fosforilación del residuo Ser 567. La fosforilación de este residuo particular promueve el desplazamiento de GluA1 hacia sitios extrasinápticos

favoreciendo en consecuencia la expresión de depresión sináptica (Coultrap et al., 2014).

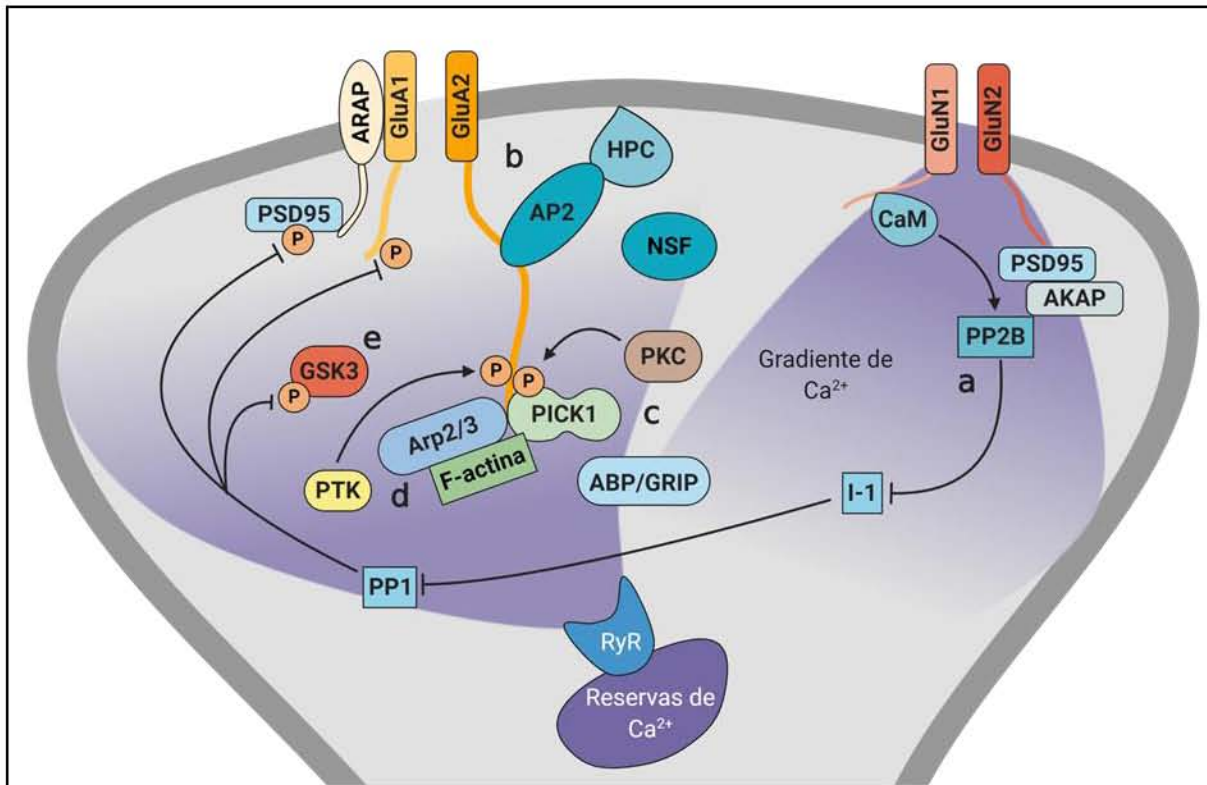


Figura 3. Mecanismos moleculares involucrados en la generación de LTD dependiente de los receptores NMDA. a) La calmodulina (CaM) detecta los niveles de Ca^{2+} que ingresa a la neurona a través de los receptores NMDA activando a la proteína fosfatasa (PP2B) también conocida como calcineurina (CaN), que a su vez activa indirectamente a la proteína fosfatasa 1 (PP1), una enzima clave durante la generación de LTD. PP1 puede desfosforilar varios sitios blanco, incluyendo la Ser 845 de la subunidad GluA1 del receptor AMPA y la Ser 295 de la proteína de densidad postsináptica 95 (PSD-95). **b)** Los receptores AMPA que contienen la subunidad GluA2 se mantienen en las densidades sinápticas gracias a su interacción con el factor sensible a la N-etilmaleimida (NSF). Durante la LTD, la proteína neuronal hipocálica (HPC) que actúa también como sensor de calcio dirige a la proteína adaptadora 2 (AP2) hacia la subunidad GluA2 desplazando a NSF, iniciando así la endocitosis de los receptores AMPA mediada por clatrina. **c)** En ciertas circunstancias, la proteína de interacción con PKC (PICK1) puede ayudar a la disociación de los receptores AMPA del complejo formado por la proteína de unión a receptores AMPA (ABP) y la proteína de interacción con receptores a glutamato (GRIP), promoviendo la fosforilación de la subunidad GluA1 efectuada por la proteína cinasa C (PKC). PICK1 también actúa como un regulador negativo de la polimerización de actina al unirse a la proteína relacionada con actina 2/3 (Arp2/3) y a F-actina. **d)** A su vez, la fosforilación de la subunidad GluA2 por proteínas tirosina cinasas (PTKs) favorece el intercambio de PICK1 por ABP/GRIP. **e)** Durante la LTD la cinasa glucógeno sintasa 3 β (GSK3 β) es activada por PP1. AKAP, proteína de anclaje de PKA; ARAP, proteína asociada al receptor AMPA; I-1, inhibidor 1; RyR, receptor de rianodina. Los niveles de calcio se representan por zonas sombreadas en púrpura. Modificado de Collingridge et al., 2010.

En este mismo orden de ideas, investigaciones recientes de Bayer y Schulman demuestran la existencia de un mecanismo de activación gradual de CaMKII, que es

sensible a la frecuencia de estimulación postsináptica. De esta manera, a frecuencias de estimulación bajas, la probabilidad de unión del complejo $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ a CaMKII se reduce y en consecuencia la autofosforilación en el residuo Thr 286 disminuye. En este caso, la actividad de las fosfatasas como PP1, que inhiben la autofosforilación de CaMKII, predomina. Por su parte, las frecuencias de estimulación altas incrementan la probabilidad de autofosforilación de CaMKII con el consecuente predominio de la actividad de fosforilación. Lo anterior es congruente con la evidencia experimental que muestra que la actividad de PP1 incrementa durante la LTD y disminuye durante la LTP (Bayer y Schulman, 2019).

Además de la fosforilación diferencial de GluA1 por CaMKII, recientemente ha sido descrito un mecanismo de participación de otra proteína cinasa dependiente de calcio/calmodulina durante la LTD. Goodell y colaboradores mostraron que, en condiciones basales, la proteína cinasa DAPK1 se encuentra inactiva y unida a la subunidad GluN2B del receptor NMDA. La activación de esta cinasa requiere la desfosforilación de su residuo Ser 308 y la unión al complejo $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$. Durante la LTD, se activa la calcineurina, que desfosforila el residuo Ser308 de la DAPK1 activando así a esta cinasa. DAPK1 fosforila entonces a la Ser 1303 de GluN2B, lo cual fortalece su unión con esta subunidad, impidiendo a su vez la formación del complejo CaMKII/GluN2B que juega un importante papel durante la expresión de la LTP (Goodell et al., 2017).

Además de CaMKII y DAPK1, existe evidencia de, por lo menos, otras dos proteínas cinasas necesarias para la generación de LTD, PKA (Lu et al., 2008) y GSK3 β (Peineau et al., 2007). Tomando en cuenta lo anterior, el panorama actual sugiere que la LTD es el resultado de un sutil balance entre la actividad de cinasas y fosfatasas.

LTD y conducta

La extinción puede definirse como la reducción o inhibición temporal de la respuesta condicionada que tiene lugar cuando, luego de establecida una asociación estímulo condicionado (EC) – estímulo incondicionado (EI), se presenta de forma reiterada en el tiempo el EC en ausencia del EI (Herry et al., 2010; Myers y Davis, 2002;

Myers et al., 2006). En un principio, se creía que la extinción era un proceso de eliminación o borrado del aprendizaje previo, en la actualidad se sabe que la extinción no resulta en la eliminación total de la conducta, sino en el establecimiento de nuevas asociaciones (Bouton et al., 2011; Maroun et al., 2012; Lacagnina et al., 2019; Zhang et al., 2019), lo cual podría significar una modificación a nivel sináptico. En este sentido, investigaciones recientes han considerado al fenómeno de LTD como el substrato celular del proceso de extinción de la memoria (Lin et al., 2003a; Kim et al., 2007; Nicholls et al., 2008; Dalton et al., 2012; Nabavi et al., 2014; Zhu et al., 2017; Ma et al., 2018).

En este orden de ideas, estudios recientes de nuestro laboratorio han reportado que la extinción del condicionamiento de aversión al sabor (CAS) es modulada bidireccionalmente por LTP y LTD. Mientras la inducción de LTP refuerza la retención del CAS, la inducción de LTD facilita la extinción (Rodríguez-Durán et al., 2017; figura 8). Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que muestran una asociación entre la LTP y el mantenimiento de la memoria, así como una asociación de LTD con la extinción (Dalton et al., 2012; Bennett et al., 2017; Li et al., 2016).

Con la aparición de técnicas como la optogenética, se ha podido explorar la relación entre el aprendizaje, la LTP y la LTD desde una aproximación más detallada, logrando mapear los múltiples componentes de un ensamble neuronal que forma una huella mnémica. Las neuronas que forman tal ensamble pueden ser etiquetadas durante el aprendizaje mediante la expresión selectiva de proteínas membranales sensibles a la luz. Esto permite su posterior identificación y manipulación. 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 reciente, se analizó específicamente la relación entre las expresiones de plasticidad sináptica como la LTP y la LTD y la memoria, para ello, se entrenó a ratas en el condicionamiento al miedo, pero se reemplazó el 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 (EI) 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 y colaboradores mostraron que el aprendizaje en habilidades motoras (motor skill learning) 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, 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 o decrementar la eficiencia sináptica de una vía específica de manera análoga a la potenciación o depresión inducida por actividad repetitiva, sugiriendo que la LTP y la LTD son expresiones plásticas que forman 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 y Bear., 1996), el cual es considerado como un mecanismo de plasticidad homeostática, que será descrito a continuación.

2. Plasticidad homeostática

Como se mencionó anteriormente, la plasticidad homeostática es el conjunto de mecanismos a través de los cuales el sistema nervioso mantiene la actividad neuronal en un rango dinámico funcional, sin que el sistema experimente un estado de quiescencia o de saturación (Pozo y Goda, 2010). Las dos expresiones de plasticidad homeostática más ampliamente estudiadas son el escalamiento sináptico y la metaplasticidad. Es importante señalar que ambos fenómenos no se contraponen, sino que son complementarios, su delimitación responde más a fines analíticos que a mecanismos subyacentes totalmente diferenciables (Keck et al., 2017). Incluso, investigación reciente sugiere que estos mecanismos coexisten y son reclutados en función del grado de actividad del sistema (Bridi et al., 2018).

2.1 Escalamiento sináptico

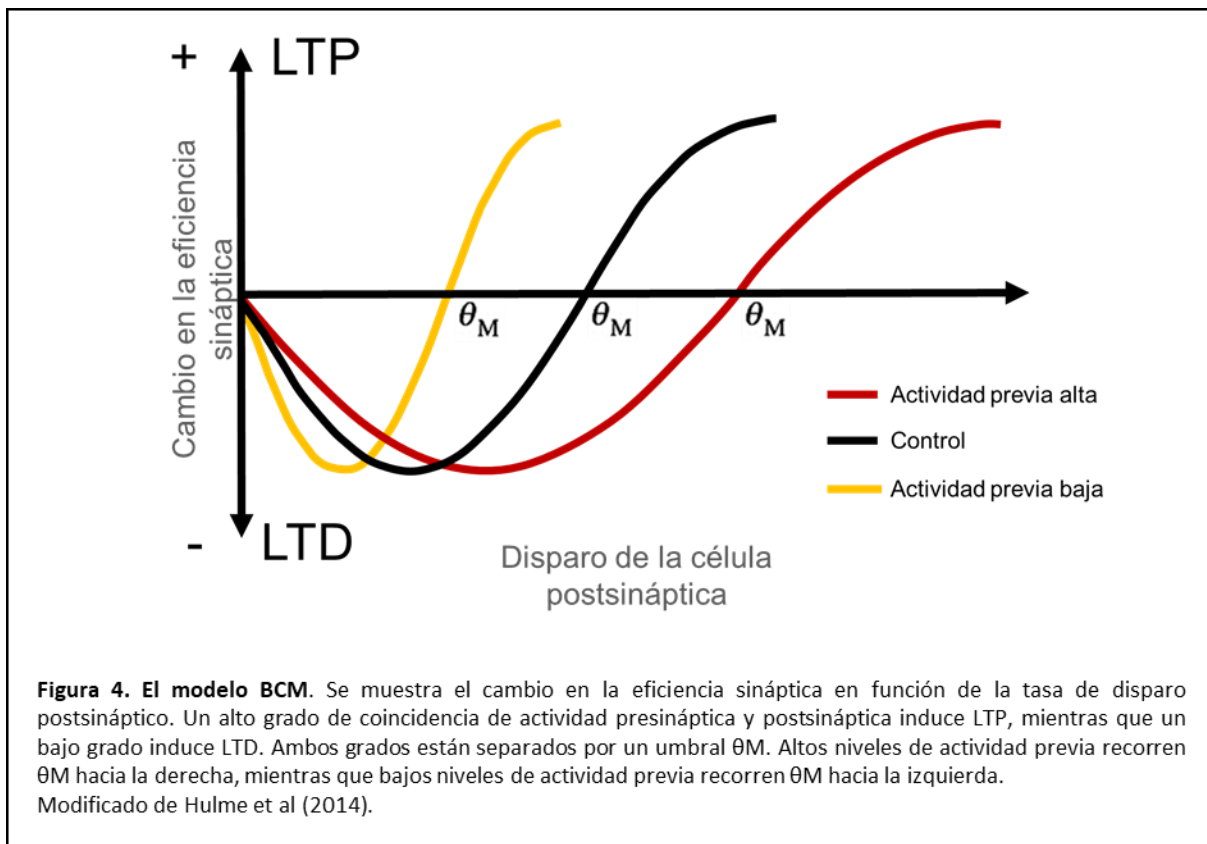
El escalamiento sináptico mantiene en niveles estables la excitabilidad neuronal mediante el incremento progresivo de la eficiencia sináptica como respuesta a la inhibición prolongada de actividad y el decremento progresivo de la eficiencia sináptica como respuesta a la excitación neuronal crónica (O'brien et al., 1998; Turrigiano y Nelson, 2000; Turrigiano, 2008; Keck et al. 2017).

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 presentaba una inhibición crónica de los canales de sodio con tetrodotoxina, se generaba un incremento de las CPSEm, compensando la disminución de actividad (Turrigiano et al., 1998; 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).

2.2 Metaplasticidad

En 1996, Abraham y Bear acuñaron el término de metaplasticidad para referirse a “la plasticidad de la plasticidad sináptica”, es decir, la capacidad de cambio de la plasticidad sináptica. Se define como el conjunto de procesos que regulan la expresión de plasticidad sináptica en función de la experiencia previa (Abraham, 2008). En otras palabras, el análisis de la metaplasticidad es el análisis de la relación temporal entre procesos de aprendizaje y memoria, tanto a nivel conductual como fisiológico.



En la primera conceptualización de este fenómeno, Abraham y Bear consideraron los criterios de inclusión siguientes: “la metaplasticidad ocurre cuando una actividad sináptica o celular previa origina un cambio persistente de la dirección o grado de la plasticidad sináptica inducida por un patrón dado de activación sináptica”; “la metaplasticidad es más obvia cuando ocurre sin cambios concurrentes en la eficacia sináptica pero, en principio, metaplasticidad y modificaciones sinápticas pueden

también ser inducidas simultáneamente por una misma actividad sináptica” (Abraham y Bear, 1996).

Para el estudio de la metaplasticidad puede producirse, en un primer momento, un episodio de actividad sináptica (estimulación eléctrica, infusión de fármacos o eventos conductuales) y, posteriormente, producir un episodio que induzca plasticidad sináptica como LTP o LTD (Abraham, 2008). La metaplasticidad se refiere a cambios duraderos, a diferencia de la modulación sináptica. No hay un consenso preciso sobre el lapso de tiempo que distingue a una de la otra, pero los paradigmas de estudio de la metaplasticidad consideran duraciones de varios minutos a varios días, mientras que los de modulación sináptica consideran cambios inmediatos en el orden de los segundos (Abraham, 2008).

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 θM , mientras que una vía es depotenciada cuando la activación postsináptica es mayor que cero, pero menor que el valor θM (figura 4), 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

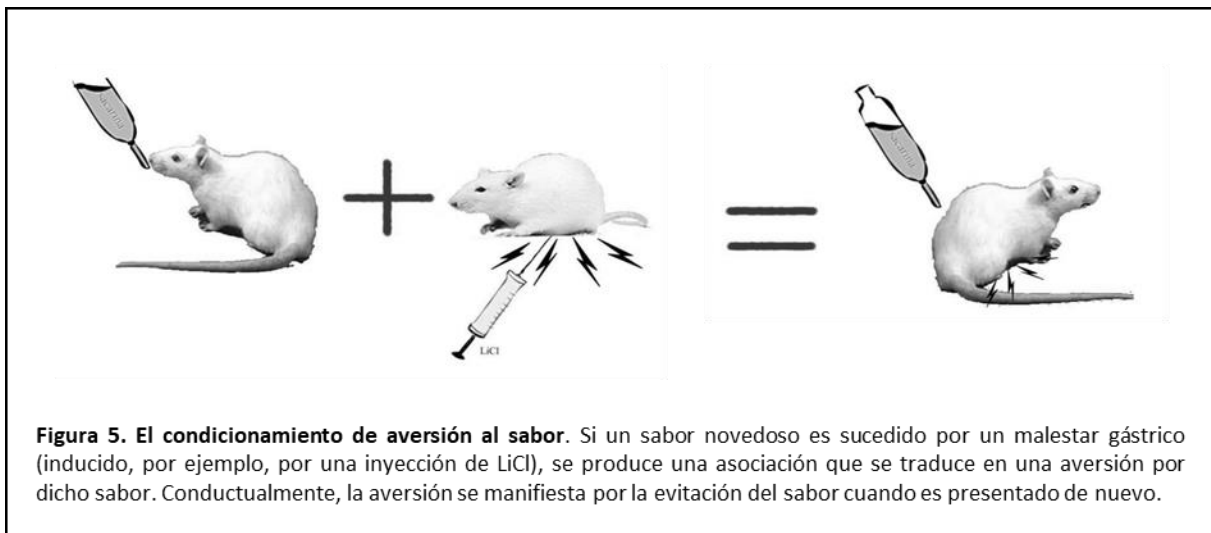
han dirigido a dilucidar algunas propiedades fundamentales de la plasticidad sináptica y han generado una comprensión más clara de la relación entre la estructura matemática de la teoría y los mecanismos moleculares que subyacen al aprendizaje y la memoria (Cooper et al., 2012).

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.

3. El condicionamiento de aversión al sabor (CAS)

3.1 Características generales

El condicionamiento de aversión al sabor (CAS) es un paradigma de condicionamiento ampliamente utilizado en el estudio de los substratos moleculares, celulares y anatómicos asociados a la formación de la memoria (Bermúdez-Rattoni, 2004; Rodríguez-Durán et al., 2017). Consiste en la asociación de un nuevo sabor (EC) con un malestar gástrico (EI); esta asociación produce en el animal una aversión al EC (respuesta condicionada; figura 5).

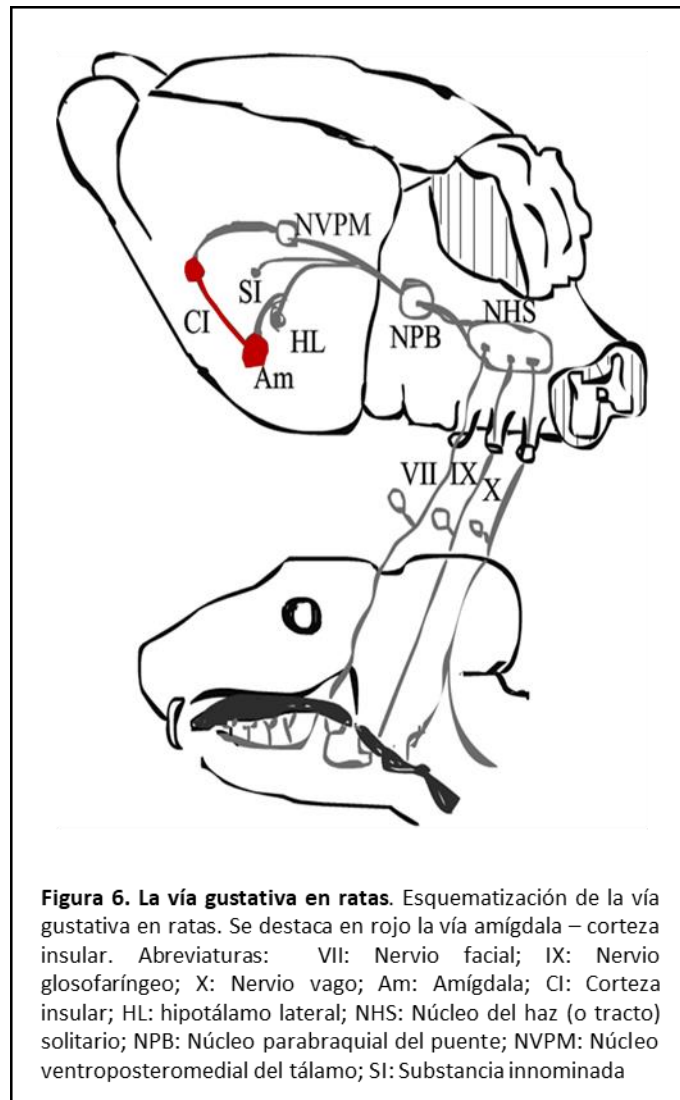


De manera conceptual, en este paradigma se pueden identificar componentes de condicionamiento clásico y de condicionamiento operante. Sin embargo, experimentalmente ha sido ampliamente considerado como un ejemplo de condicionamiento clásico que ofrece grandes ventajas, como el conocimiento de las vías neurales que están implicadas en la formación de este tipo de memoria, el que la asociación se produce con una sola presentación contingente de sabor y malestar, así como que la aversión se produce incluso cuando el lapso de tiempo entre el EC y el EI es largo (15 y 30 min de intervalo se relacionan a los mismos valores de aversión; Bermúdez-Rattoni, 2004; Schafe et al., 1995).

3.2 Bases fisiológicas del CAS

Los vertebrados detectamos los sabores por medio de la activación de células quimiorreceptoras que responden a las moléculas o los iones que están disueltos en la saliva. Estas células, junto con células basales y de soporte, forman botones gustativos, los cuales son considerados los órganos sensoriales del sentido del gusto. Tanto en el humano como en la rata, los botones gustativos se ubican en pequeñas protuberancias del epitelio de la lengua, denominadas papilas gustativas. Por su forma se pueden distinguir tres tipos de papilas (distribuidas en diferentes zonas de la lengua): circunvaladas, foliadas y fungiformes. Es relevante mencionar que el paladar, la faringe, la epiglotis y la parte superior del esófago presentan botones gustativos, pero solo los botones que se encuentran en la lengua están agrupados en papilas (Bear, 1996). Los pares craneales VII (facial), IX (glossofaríngeo) y X (vago) llevan información de los botones gustativos (figura 6). El nervio facial lleva información de las papilas fungiformes que se encuentran en la parte anterior de la lengua, así como de los botones gustativos localizados 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 los botones gustativos de la epiglotis, laringe y esófago. Por otra parte, el nervio trigémino inerva la periferia de los botones gustativos y transmite información somatosensorial, de textura y de 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 parabraquial 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, que se comunica con la CI agranular (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).

Cabe 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 porque transmiten información relacionada con irritación por intoxicación gástrica a la CI (Yamamoto et al., 1992). Por ejemplo, un estudio electrofisiológico mostró la activación de la CI cinco minutos después de la inyección de cloruro de litio (Weiner et al., 1994). También es importante considerar las conexiones recíprocas entre la CI y la amígdala. Esta última está relacionada con tareas aversivas, como el condicionamiento al miedo y la prevención pasiva; también está relacionada con respuestas emocionales como el miedo y la agresión (McGaugh et al., 1990; LeDoux, 1993). Entre las vías neurales implicadas en la adquisición y almacenamiento de la aversión al sabor destaca la vía que va de la BLA a la CI (Escobar y Bermúdez-Rattoni, 2000; Bermúdez-Rattoni, 2004).

4. El CAS y su relación con la LTP y la LTD en la CI

Trabajos previos de nuestro grupo de investigación mostraron que es posible inducir LTP en la vía BLA-CI y que ésta es dependiente de los receptores NMDA (Escobar et al., 1998). Posteriormente, se describió cómo la inducción de LTP en esta vía modifica la retención de la memoria de aversión al sabor, retrasando su extinción (Escobar y Bermúdez-Rattoni, 2000; Rodríguez-Durán et al., 2017), así como que el entrenamiento en el CAS bloquea la posterior inducción de LTP en la CI por lo menos hasta por 5 días tras el entrenamiento en el CAS (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rivera-Olvera et al., 2016).

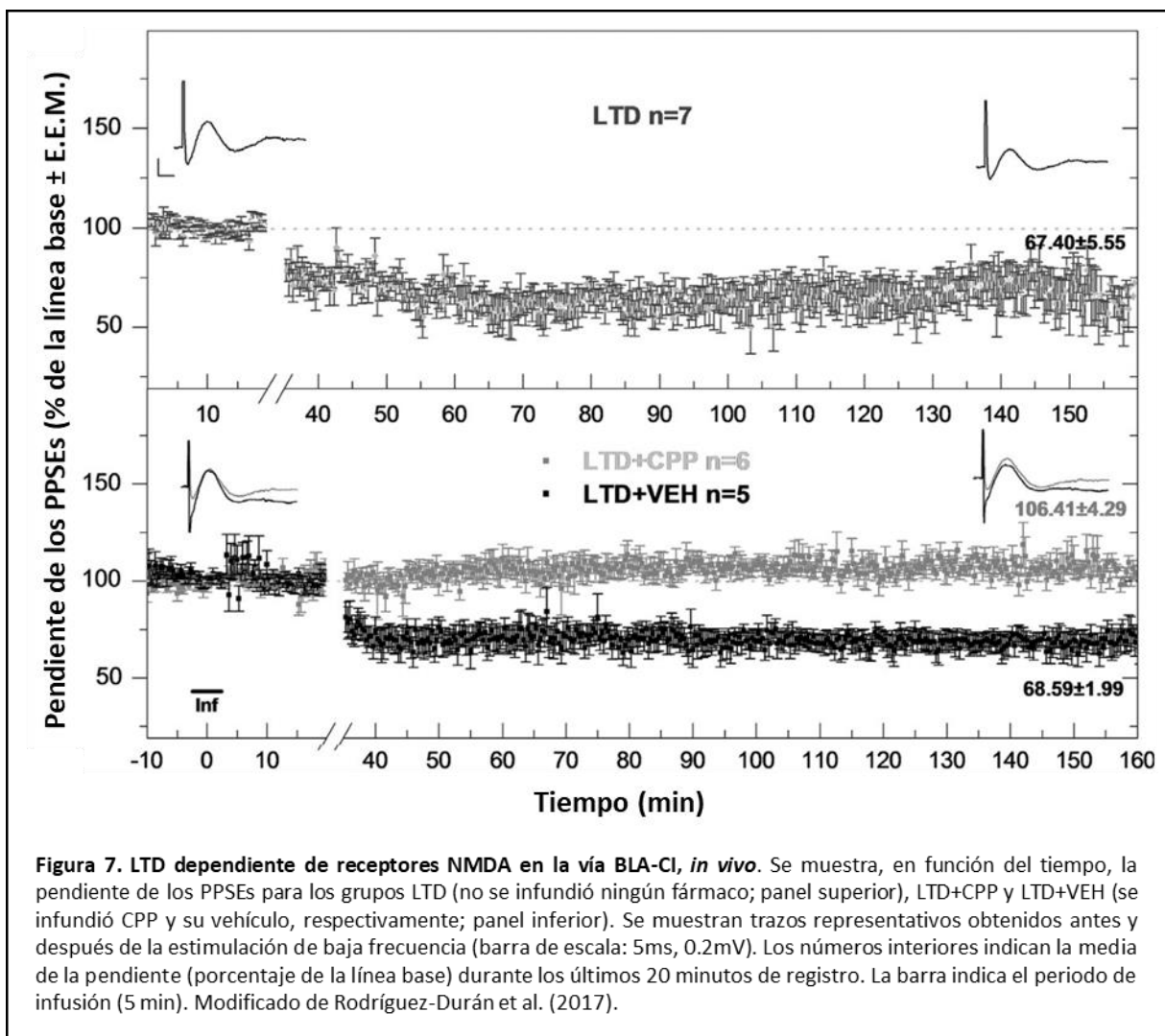


Figura 7. LTD dependiente de receptores NMDA en la vía BLA-CI, *in vivo*. Se muestra, en función del tiempo, la pendiente de los PPSes para los grupos LTD (no se infundió ningún fármaco; panel superior), LTD+CPP y LTD+VEH (se infundió CPP y su vehículo, respectivamente; panel inferior). Se muestran trazos representativos obtenidos antes y después de la estimulación de baja frecuencia (barra de escala: 5ms, 0.2mV). Los números interiores indican la media de la pendiente (porcentaje de la línea base) durante los últimos 20 minutos de registro. La barra indica el periodo de infusión (5 min). Modificado de Rodríguez-Durán et al. (2017).

En lo que concierne a la relación entre la LTD y el CAS, apenas en la última década se ha mostrado que es posible inducir LTD en la CI. En un estudio pionero, Liu y colaboradores indujeron con estimulación de baja frecuencia por primera vez LTD *in vitro* en la CI mostrando además su dependencia de la activación de los receptores glutamatergicos NMDA y mGluR5, así como de la activación de canales de calcio dependientes de voltaje (Liu et al., 2013). Sin embargo, este estudio se realizó en un modelo cortico-cortical. Este mismo modelo fue utilizado por Li y colaboradores, en un trabajo donde se observó que el CAS previo a la inducción de LTD cortico-cortical no tiene efecto sobre ésta, pero, por otra parte, si además se extingue esta memoria, la LTD no se mantiene (Li et al., 2016).

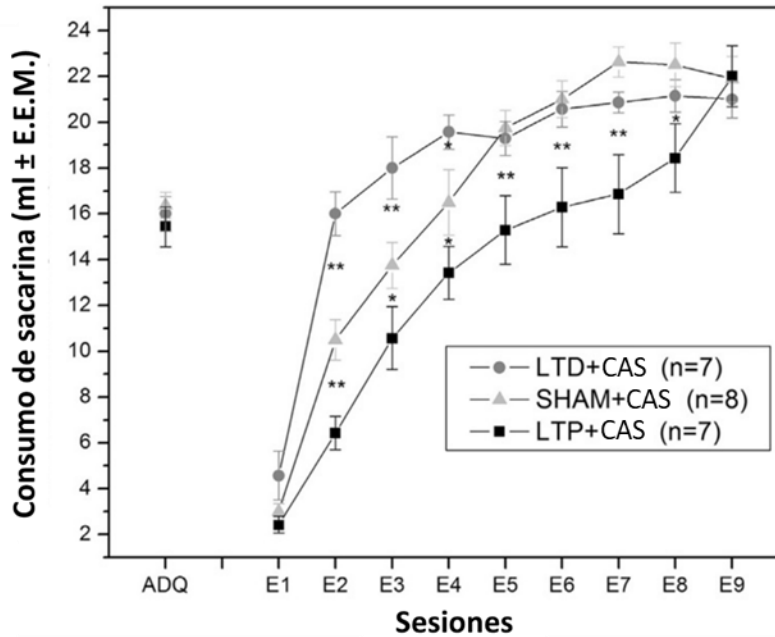


Figura 8. La LTD en la vía BLA-CI acelera la extinción del CAS. Se muestra el consumo de sacarina en función de la sesión (ADQ: adquisición; E1-E9: extinción) para los grupos LTD+CAS, SHAM+CAS y LTP+CAS. La LTD acelera la extinción del CAS, mientras que la LTP la atrasa. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$. Modificado de Rodríguez-Durán et al. (2017).

Recientemente, nuestro grupo de investigación mostró que es posible inducir con estimulación de baja frecuencia LTD *in vivo* en la vía BLA-CI (Rodríguez Durán et al., 2017). Esta forma de LTD es dependiente de los receptores NMDA, ya que la infusión de CPP, antagonista del receptor NMDA, bloquea la inducción de LTD (figura 7). Como ya fue mencionado, en ese mismo trabajo se hizo el hallazgo interesante de que la inducción de LTD en la vía BLA-CI de manera previa al entrenamiento en el CAS acelera la extinción de esta tarea (figura 8).

5. Planteamiento del problema

El estudio de los mecanismos fisiológicos que subyacen al almacenamiento y a la consolidación de información es esencial para una mejor comprensión de éstos.

Como se mencionó anteriormente, las observaciones de nuestro grupo de investigación incluyen el que la inducción de LTP en la vía BLA-CI previa al entrenamiento en el CAS retrasa su extinción (Escobar y Bermúdez-Rattoni, 2000; Rodríguez-Durán et al., 2017), en tanto que la inducción de LTD la acelera (Rodríguez-Durán et al., 2017). Asimismo, el entrenamiento en el CAS bloquea la posterior inducción de LTP (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rivera-Olvera et al., 2016).

En este contexto, el presente estudio se propone explorar la interacción metaplástica del entrenamiento en el CAS con la expresión de la LTD *in vivo* en la CI.

Hipótesis

El entrenamiento en el CAS previo a la estimulación de baja frecuencia modificará la expresión de la LTD en la vía BLA-CI *in vivo*.

6. Objetivos

Objetivo general

Analizar la influencia metaplástica del condicionamiento de aversión al sabor sobre la depresión de largo plazo *in vivo* en la corteza insular.

Objetivos particulares

- Analizar la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la expresión de LTD en la vía BLA-CI.
- Analizar la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la excitabilidad neuronal basal en la vía BLA-CI.

7. Metodología

7.1 Sujetos

Fueron empleadas 29 ratas macho de la cepa Wistar con pesos entre 350g y 380g. Los sujetos fueron mantenidos en cajas individuales de acrílico bajo un ciclo de luz/obscuridad de 12h/12h (luz de las 08hrs a 20hrs) a una temperatura promedio de 23°C con comida y agua *ad libitum* (excepto en las fases experimentales donde se indique algo diferente). Los experimentos fueron realizados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

7.2 Entrenamiento en el CAS

Establecimiento de la línea base. Al inicio del entrenamiento en el CAS, los animales fueron privados de agua por 24 horas (a partir de las 10hrs). 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 tres días, durante los cuales se estableció la línea base de consumo. Para tal fin, se utilizaron bebederos contruidos con probetas graduadas cubiertas con tapones de caucho horadados con boquillas de metal. **Adquisición.** En 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. **Restablecimiento de la línea base.** 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. **Prueba de aversión.** Una vez restablecida la línea base, el agua fue substituida nuevamente por la solución de sacarina 0.1% durante la prueba de aversión (ver figura 9). La reducción del consumo de sacarina con respecto al consumo de la línea base fue utilizada para medir la fuerza de la aversión.

7.3 Registro electrofisiológico *in vivo*

Tras 48h de haber concluido la fase conductual de CAS (es decir, el término de la prueba de aversión) los sujetos fueron sometidos a cirugía para estimulación y

registro electrofisiológicos. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital. La primera inyección fue de (50mg/kg intraperitoneal); posteriormente se dio cada hora inyecciones suplementarias (25mg/Kg) del anestésico con el fin de mantener los niveles quirúrgicos de anestesia. La temperatura del cuerpo fue mantenida con un cojín homeotérmico. Las respuestas fueron evocadas unilateralmente a través de estimulación directa en la BLA, en las coordenadas (AP -2.8mm, ML -5.0mm, DV-8.5mm; Paxinos y Watson, 2007), con un electrodo bipolar trenzado de acero inoxidable cubierto con teflón de 0.127mm de diámetro. La estimulación fue suministrada por un estimulador Grass S48. Las respuestas en la CI fueron registradas unilateralmente con un electrodo monopolar de acero inoxidable cubierto con teflón de 0.127mm de diámetro, colocado en las coordenadas (AP +1.2mm, ML +5.5 mm, DV -5.5mm) (Paxinos y Watson, 2007). Las respuestas evocadas fueron registradas con una unidad PSIU6, la cual envía la señal a un amplificador Grass P5. Posteriormente, la señal fue digitalizada para su almacenamiento y análisis en una computadora provista del software "Data Wave". Las señales electroencefalográficas fueron monitoreadas en todo momento del registro.

La estimulación basal (20min) está constituida por estímulos (pulsos monofásicos de 20-40 μ A y 0.1-0.25 ms de duración) de baja frecuencia evocados cada 20 segundos. Tras el registro de la línea base, se aplicó una estimulación de baja frecuencia capaz de inducir LTD, la cual consta de 900 trenes de estimulación a 1Hz; cada tren contiene 5 pulsos de 250 μ s de duración a 250Hz (Rodríguez-Durán et al., 2017). Tras la aplicación de los trenes, se registraron (durante 2 horas) las respuestas evocadas (con estimulación basal) con el fin de observar los cambios en los potenciales postsinápticos excitatorios.

7.4 Curva 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 0.10 mV (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rivera-Olvera et al., 2018).

7.5 Histoquímica de Nissl

A fin de verificar la posición exacta de los electrodos en el cerebro de la rata y descartar los sujetos con posición inadecuada, se utilizó la técnica histológica de tinción de Nissl. Tras los procedimientos electrofisiológicos, los animales fueron sacrificados mediante una dosis letal de pentobarbital. Posteriormente, fueron perfundidos transcárdialmente con 400 ml de solución salina al 9% (pH 7.4), seguida de 400 ml de paraformaldehído (4%), glutaraldehído (0.2%) y amortiguador de fosfatos al 0.1M (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 mantuvieron a 4°C durante 48 horas. Se cortaron secciones coronales de 40 μm con un micrótopo de congelación (Leica RM 2000R) y fueron resguardadas en amortiguador de fosfatos (PBS) antes de colocarlas en portaobjetos. Las muestras fueron teñidas con violeta de cresilo y examinadas en un microscopio óptico.

7.6 Análisis estadístico de datos

El análisis de los datos obtenidos durante la fase conductual se efectuó a través del ANOVA factorial de dos vías (grupo y sesión). El análisis de los datos electrofisiológicos se hizo a través del ANOVA de medidas repetidas. En ambos casos, se empleó la prueba post-hoc de Fisher.

7.7 Diseño experimental

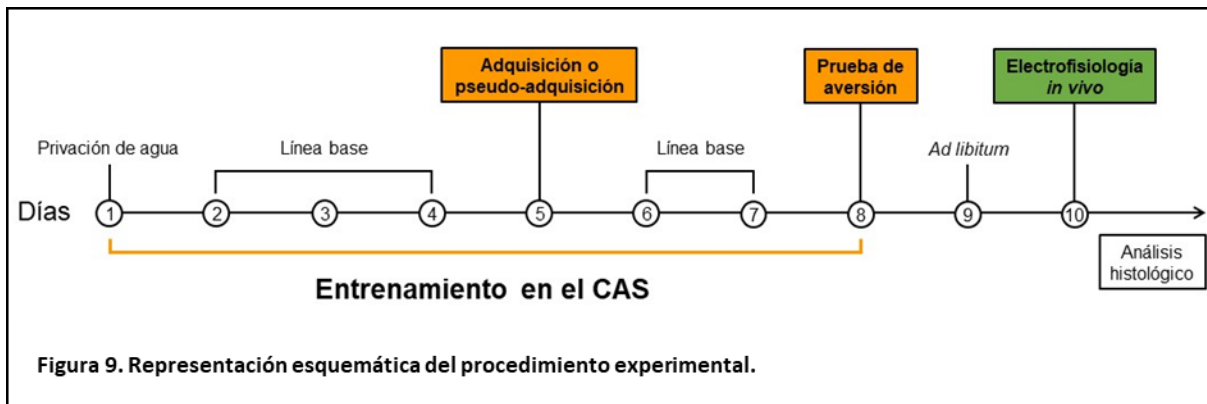
Con el fin de analizar la influencia metaplástica del condicionamiento de aversión al sabor sobre la depresión de largo plazo *in vivo* en la corteza insular, los animales fueron divididos en los siguientes grupos experimentales:

Grupo LFS: (n=8) Los sujetos no fueron entrenados en CAS y sólo se aplicó la estimulación de baja frecuencia capaz de inducir LTD en la vía BLA-CI (900 trenes de estimulación a 1Hz; cada tren contiene 5 pulsos de 250 μs de duración a 250Hz; Rodríguez-Durán et al. 2017).

Grupo CAS + LFS: (n=8) Los sujetos fueron entrenados en el CAS y 48h después de la prueba de aversión se aplicó la estimulación de baja frecuencia capaz de inducir LTD en la vía BLA-CI.

Grupo PEI + LFS: (n=6) Los sujetos recibieron un pseudo-entrenamiento en el CAS, donde se alteró el EI, reemplazando el cloruro de litio por PBS (sesión de adquisición) para evitar la asociación sabor (EC) - malestar gástrico (EI). Posteriormente, se aplicó la estimulación de baja frecuencia capaz de inducir LTD en la vía BLA-CI

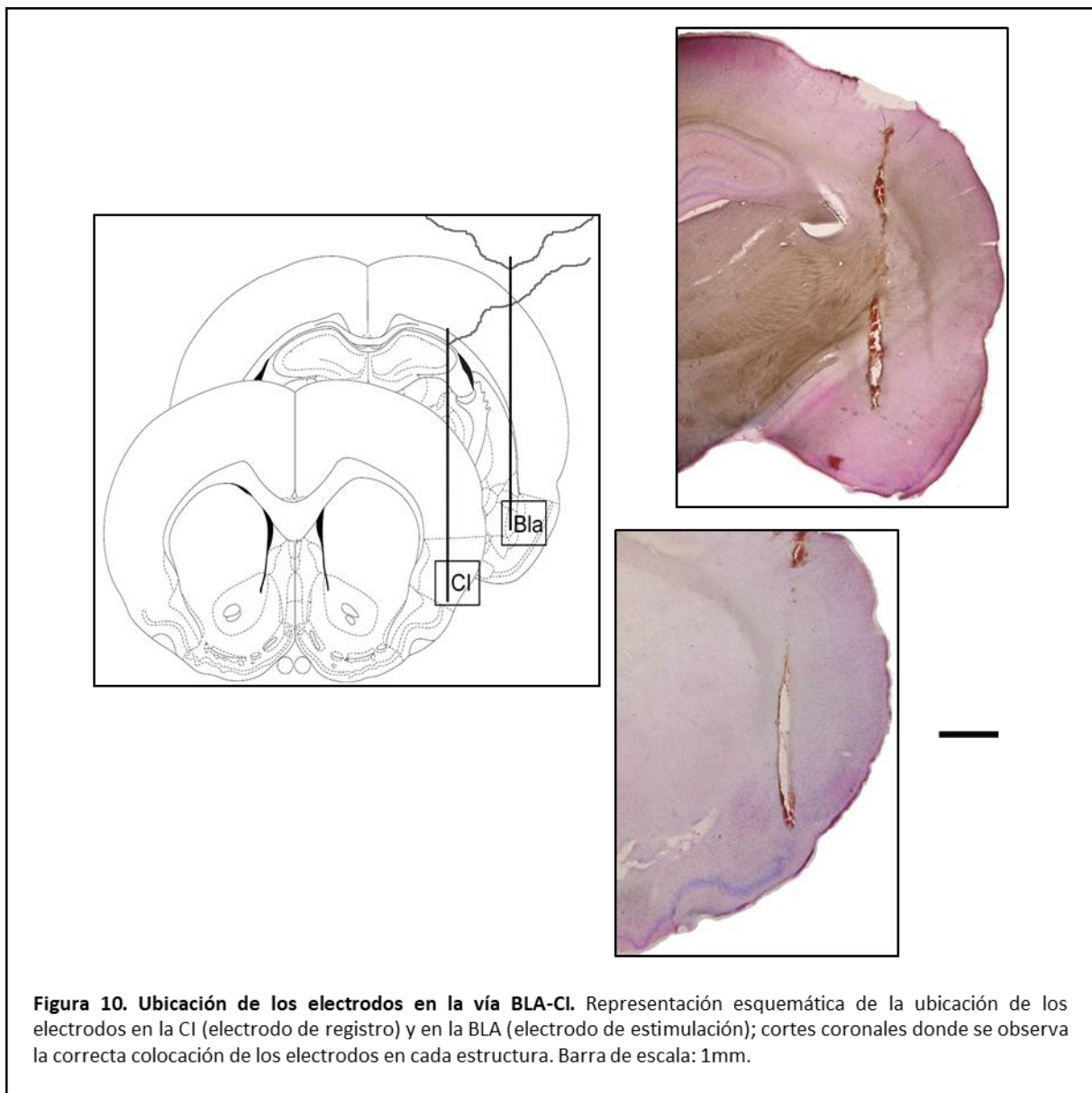
Grupo PEC + LFS: (n=7) Los sujetos recibieron un pseudo-entrenamiento en CAS, donde se alteró el EC, reemplazando la solución de sacarina por agua (sesión de adquisición) para evitar la asociación sabor (EC) - malestar gástrico (EI). Posteriormente, se aplicó la estimulación de baja frecuencia capaz de inducir LTD en la vía BLA-CI.



8. Resultados

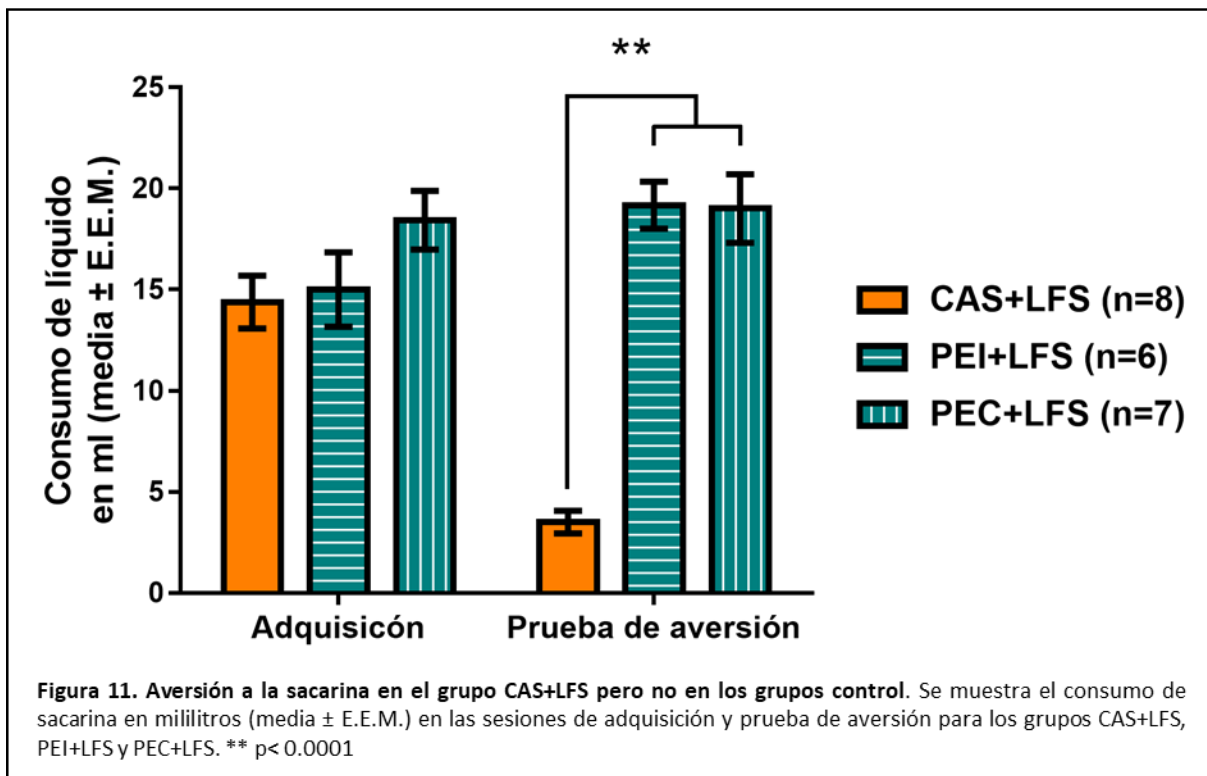
8.1 Resultados histológicos

Se realizó el análisis histológico de los cortes de cerebro de los sujetos sometidos al protocolo electrofisiológico con el fin de verificar la adecuada ubicación de los electrodos de estimulación y registro (en la BLA y la CI), respectivamente (figura 10). Los animales con una ubicación incorrecta fueron excluidos del análisis estadístico.



8.2 Resultados conductuales

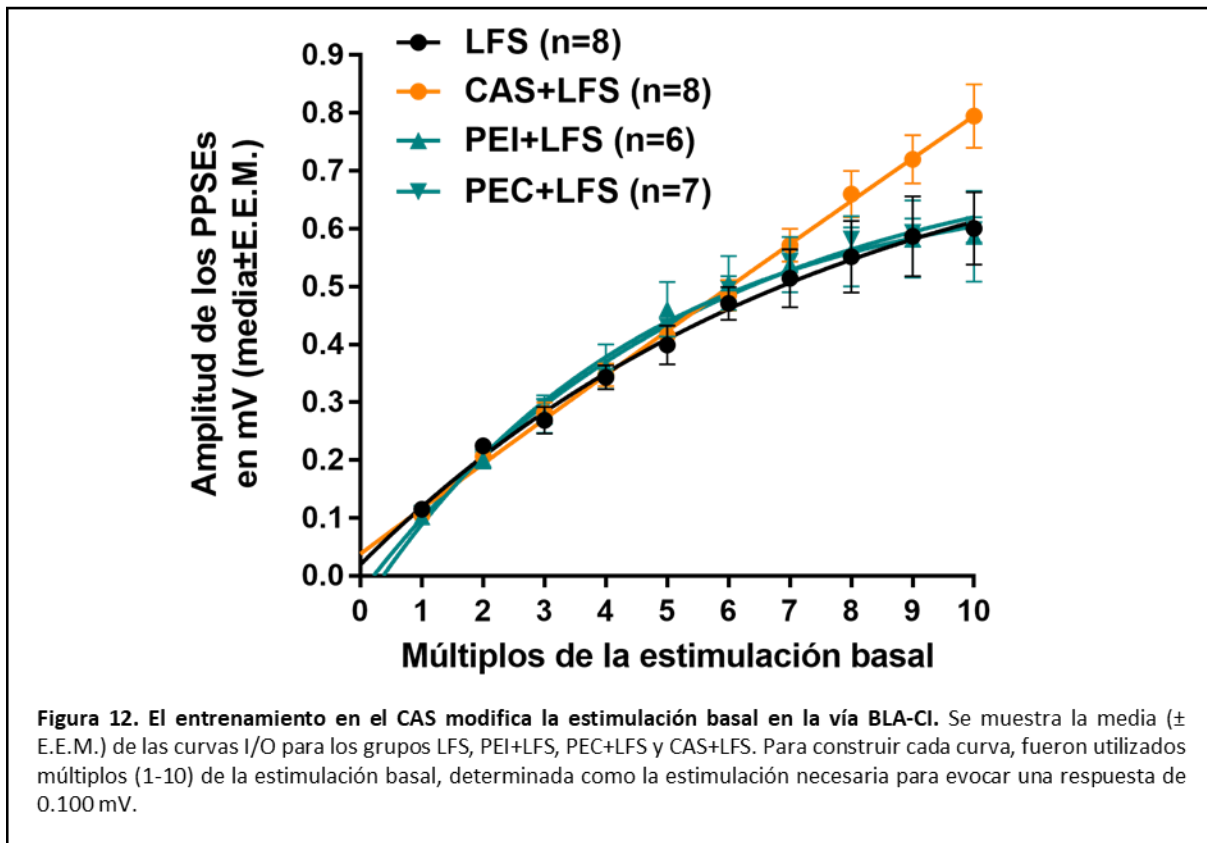
En la sesión de adquisición, el consumo medio de sacarina (agua para el grupo PEC+LFS) fue similar entre los tres grupos. El consumo medio de sacarina en la prueba de aversión fue significativamente más bajo para el grupo CAS+LFS ($3.5\text{ml} \pm 0.6$) que para el grupo PEI+LFS ($19.2\text{ml} \pm 1.2$) y el grupo PEC+LFS (19.0 ± 1.7), lo cual refleja una correcta asociación ente EI y EC para el primer grupo, pero no para los dos grupos control (figura 11).



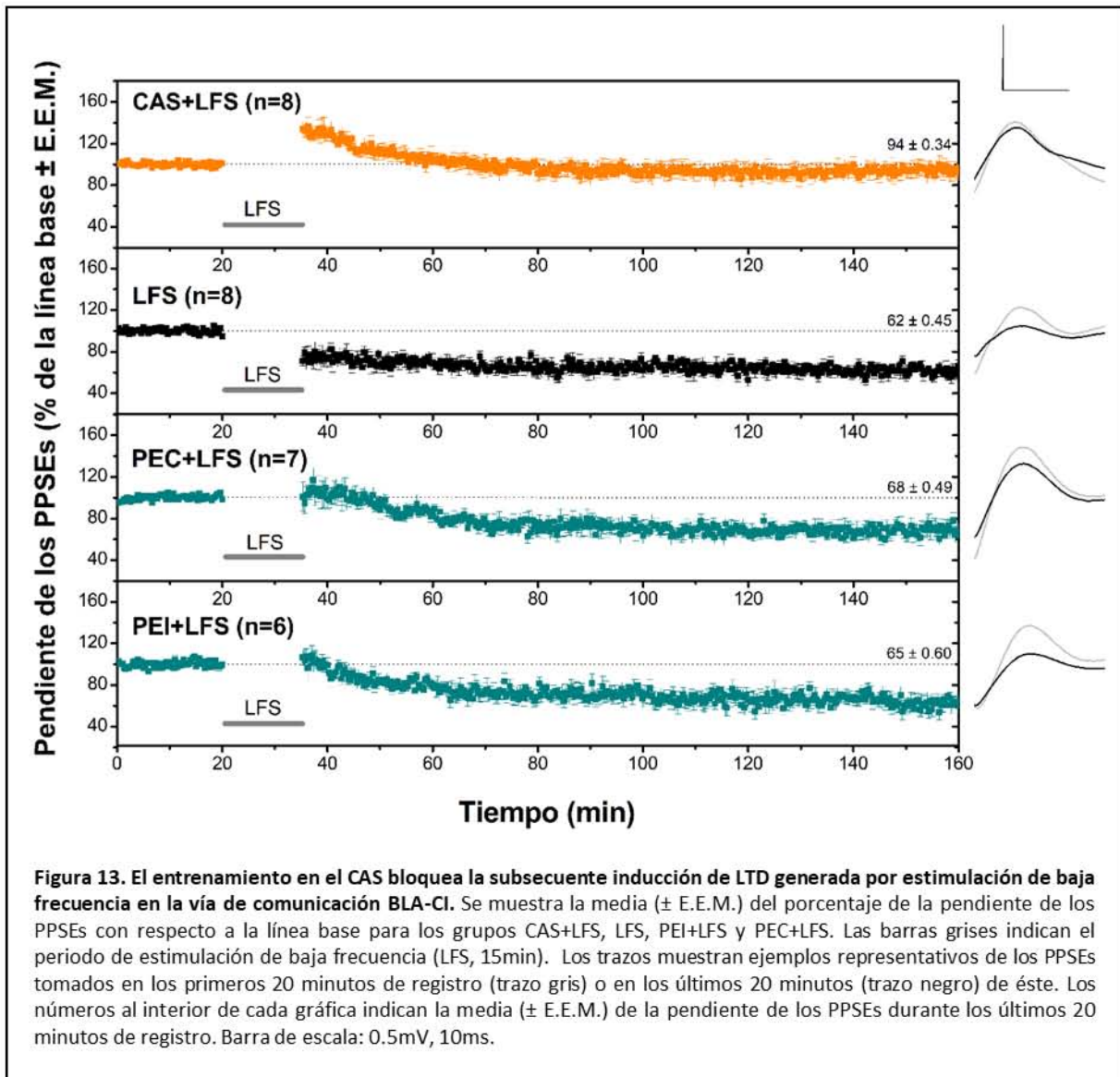
8.3 Resultados electrofisiológicos

Los resultados hasta ahora obtenidos muestran una diferencia significativa en la respuesta electrofisiológica de la CI entre los grupos LFS y CAS+LFS. El registro de las curvas I/O mostró que el entrenamiento en el CAS modifica la excitabilidad basal en la vía BLA-CI en concordancia con estudios previos de nuestro grupo de investigación (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rodríguez-Durán et al., 2017). El análisis de regresión no lineal de las curvas I/O mostró diferencia significativa entre las pendientes del grupo CAS+LFS y las del resto de los grupos (LFS, PEC+LFS, PEI+LFS; $p < 0.001$),

sugiriendo que el entrenamiento en el CAS incrementa la eficiencia sináptica en la vía BLA-CI (Figura 12).



Por su parte, el análisis de varianza de medidas repetidas de la pendiente de los PPSEs reveló diferencias significativas entre todos los grupos $F_{(3,25)} = 7.62$ ($p < 0.001$). La prueba post hoc de Fisher indica diferencias significativas entre el grupo CAS + LFS y el resto de los grupos ($p < 0.01$). Asimismo, no existen diferencias significativas en las pendientes de los PPSE entre los grupos LFS, PEI+LFS y PEC+LFS. Lo anterior sugiere que el pseudo entrenamiento no tiene un efecto sobre la expresión de la LTD en esta vía. Estos resultados muestran que el entrenamiento en el CAS impide la expresión de LTD en la vía BLA-CI (figura 13).



9. Discusión

Los procesos de aprendizaje y memoria requieren de la adaptación de los circuitos cerebrales al ambiente permitiendo almacenar las experiencias por largos períodos y recuperarlas cuando son necesarias (Kandel y Hawkins, 1992). El sistema nervioso tiene la capacidad de mantener la actividad neuronal en rangos funcionales. En este sentido, 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). Entre las expresiones de plasticidad homeostática se encuentra la metaplasticidad, que, como referimos previamente, se define como el conjunto de procesos que regulan la expresión de plasticidad sináptica en función de la experiencia previa (Abraham, 2008). Los resultados del presente estudio muestran que el entrenamiento en el CAS bloquea la expresión de la LTD de la vía BLA-CI, promoviendo así una regulación metaplástica de la comunicación sináptica en un área neocortical.

En este sentido, estudios previos demuestran que una modificación en la eficiencia sináptica iniciada por el entrenamiento en tareas conductuales es capaz de modificar la expresión de plasticidad sináptica subsecuente (Riout-Pedotti et al., 2000; Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005; Kim et al., 2007; Cooke y Bear, 2010). De hecho, investigaciones previas de nuestro grupo revelan que el entrenamiento en el CAS bloquea la posterior inducción de LTP en la vía BLA-CI (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rivera-Olvera et al., 2016). No obstante, la exploración de la interacción metaplástica del entrenamiento en una tarea conductual con la expresión de la LTD *in vivo* en áreas neocorticales es aún incipiente. A este respecto, Li y colaboradores reportaron que la extinción del CAS en ratones impide la subsecuente inducción de LTD en una proyección cortico-cortical en una preparación *ex vivo* (Li et al. 2016). Por su parte en un estudio *ex vivo*, Stansley y colaboradores reportaron que la LTD en el área CA1 hipocampal era transformada en LTP cuando previo a la estimulación de baja frecuencia se extinguía el condicionamiento de miedo contextual. Adicionalmente, si los ratones eran sometidos al condicionamiento sin prueba de miedo, la subsecuente estimulación de baja frecuencia inducía LTD exitosamente (Stansley et al., 2017).

Este conjunto de hallazgos pone en evidencia el que el entrenamiento en tareas de aprendizaje tiene efectos directos en la eficiencia de la comunicación sináptica por periodos prolongados. Lo cual se refleja en la modificación de los umbrales para expresar plasticidad sináptica en las vías involucradas. Estos mecanismos permiten al sistema mantener la actividad neuronal en rangos dinámicos funcionales durante los procesos de aprendizaje y memoria.

Es importante señalar que aunados a los efectos que el entrenamiento en tareas conductuales ejerce sobre la expresión de la plasticidad sináptica subsecuente, la metaplasticidad también se manifiesta en cambios en la ejecución de tareas conductuales posteriores a la inducción de plasticidad sináptica, como se ha reportado recientemente (Nabavi et al., 2014; Rodríguez-Durán et al., 2017; Ma et al., 2019).

La presente investigación revela asimismo que el CAS promueve un incremento en las curvas I/O, un resultado que concuerda con lo reportado previamente por nuestro grupo de investigación (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rodríguez-Durán et al., 2014; Rivera-Olvera et al., 2016), 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 LTD en la CI. En tal sentido, se ha reportado que 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; Kim et al., 2007; Hong et al., 2011; Li et al. 2016; Stansley et al., 2017), lo cual pone de manifiesto que la vía neuronal responde de una manera más efectiva a una estimulación determinada. Nuestros hallazgos sugieren que el incremento en la actividad basal promovida por el entrenamiento en el CAS (como lo revelan las curvas I/O) modifica las cascadas de señalización dependientes de Ca^{2+} , modificando a su vez el umbral de actividad en la vía BLA-CI.

Pese a que los mecanismos moleculares precisos implicados en la metaplasticidad no se comprenden cabalmente aún, se ha reportado que la activación de la proteína cinasa dependiente de adenosín monofosfato cíclico (PKA) así como CaMKII facilitan tanto la inducción como la persistencia de la LTP (Abraham, 2008; Mauceri et al., 2004). La activación de ambas cinasas promueve la inserción de receptores AMPA en la membrana sináptica, lo cual facilita la expresión de incrementos de la eficiencia sináptica (Abraham et al., 2008; Mauceri et al., 2004). Relacionado con ello, estudios previos de nuestro grupo de investigación muestran que el CAS es inhibido mediante el bloqueo farmacológico de la proteína cinasa A (PKA) en la CI (Rodríguez-Durán y Escobar, 2014). En este sentido, se ha reportado que la fosforilación de CREB en el residuo Ser 133 por PKA, facilita la inducción de LTP en el hipocampo (Barco et al., 2002; Chen et al., 2010). Estas evidencias sugieren que la metaplasticidad mediada por PKA puede favorecer la expresión de LTP y obstruir la de LTD promoviendo el corrimiento de las curvas BCM (Barco et al., 2002; Abraham, 2008).

Dada la importancia de las concentraciones de Ca^{2+} en la generación y regulación de la LTP y la LTD, las cascadas de fosforilación activadas por este ion han recibido atención como posibles mediadores de la metaplasticidad (Pérez-Otaño y Ehlers, 2005).

En este orden de ideas, se ha propuesto un mecanismo mediante el cual los cambios en el umbral de modificación θM de las curvas BCM son dependientes de la proporción de las subunidades del receptor NMDA permeable a Ca^{2+} . Los receptores NMDA que contienen subunidades GluN2A presentan una cinética de apertura más rápida que aquellos que contienen GluN2B. La actividad genera incrementos en la proporción de receptores NMDA que contienen la subunidad GluN2A presentes en las densidades sinápticas, haciendo que se requieran frecuencias de estimulación más altas para introducir la misma cantidad de Ca^{2+} con la consecuente modificación de θM (Quinlan et al., 1999; Philpot et al., 2001; Quinlan et al., 2005; Pérez-Otaño y Ehlers, 2005). Asimismo, Dalton y colaboradores mostraron que la inducción de LTD en la

amígdala lateral es dependiente de receptores que contienen la subunidad GluN2B (Dalton et al., 2012).

El efecto metaplástico descrito en la presente investigación muestra que el CAS modifica el umbral θ_M , el cual determina la dirección del cambio de la eficiencia sináptica en la vía BLA-CI. Esta modificación podría estar mediada por cambios en las proporciones de las subunidades GluN2A/GluN2B del receptor NMDA. En este sentido, nuestro grupo de investigación ha reportado que la activación de los receptores NMDA es necesaria tanto para la regulación metaplástica del CAS sobre la LTP como para la inducción de LTD en la vía BLA-CI (Rodríguez-Durán et al., 2011; Rodríguez-Durán et al., 2017). Actualmente, los receptores NMDA son considerados como unos de los principales responsables de la inducción de diversos fenómenos plásticos, debido a su capacidad de censar actividad repetitiva y convergencia sináptica, aunada a su alta permeabilidad al calcio (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; Dalton et al., 2012). Además, estos receptores también se encuentran relacionados con la memoria de diversas tareas de aprendizaje, incluido 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).

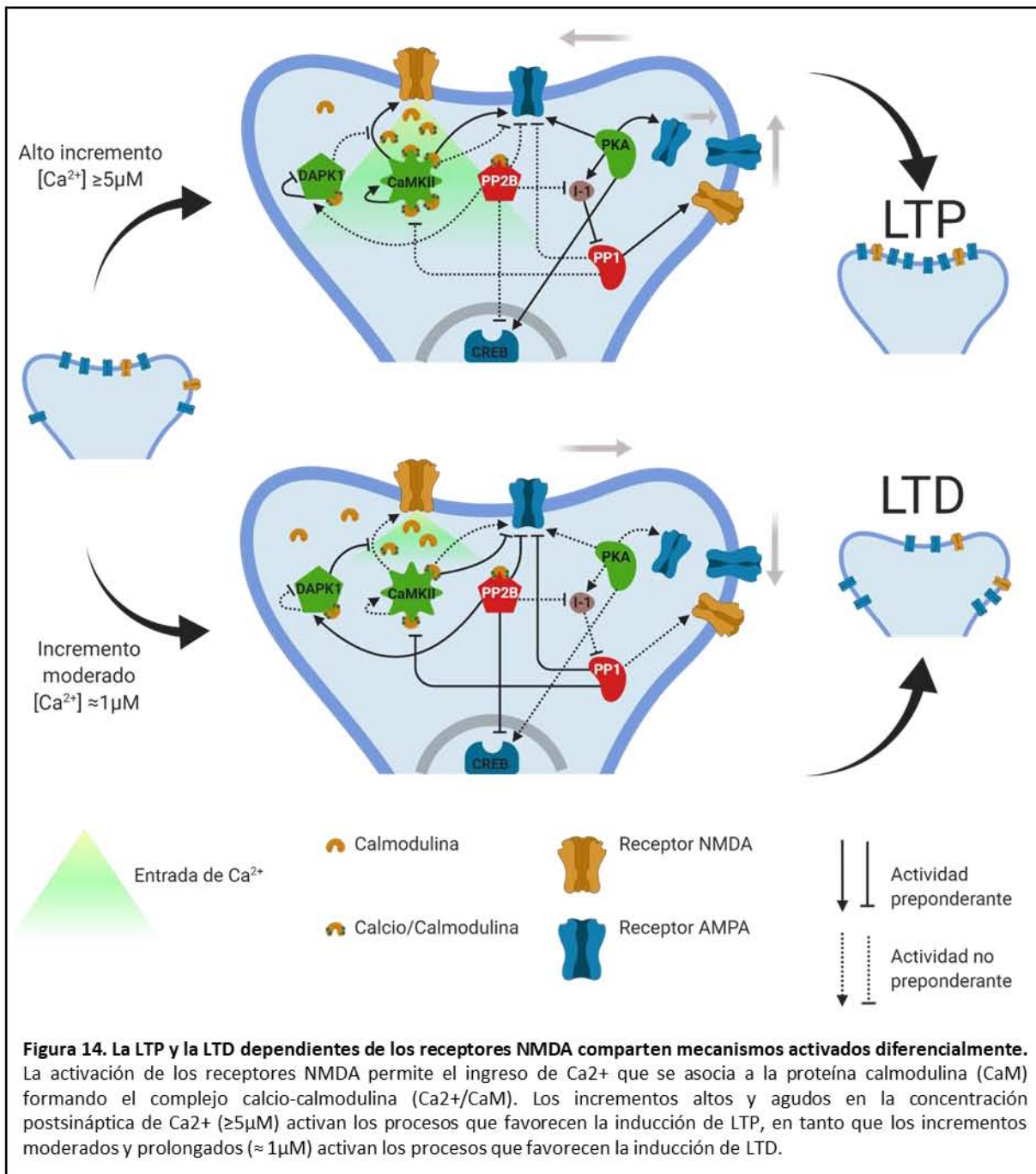
Por otra parte, hay cada vez más evidencia que confiere importancia a CaMKII como mediador de la metaplasticidad. La actividad de esta cinasa es necesaria tanto para la expresión de LTP como de LTD en el hipocampo (Coultrap et al. 2014; Bayer y Schulman, 2019). En relación con esto, investigaciones recientes de nuestro grupo muestran que la actividad de CaMKII es necesaria para el mantenimiento tanto de la LTP de la vía BLA-CI como para el de la memoria de largo plazo de CAS (Juárez-Muñoz et al., 2017). Asimismo, CaMKII es sensible a los cambios en las

concentraciones postsinápticas de Ca^{2+} , lo que se relaciona con el estado de autofosforilación de esta cinasa y su papel diferencial en la expresión de LTP o LTD (Coultrap et al. 2014; Bayer y Schulman, 2019). En el presente estudio se observa un corrimiento de los umbrales para generar LTD, que podría deberse en parte al estado de autofosforilación de CaMKII inducido por el CAS. En este sentido, investigaciones previas han mostrado de manera específica la importancia del estado de autofosforilación de CaMKII como un actor molecular de la metaplasticidad (Zhang et al. 2005; Yang et al., 2011; Opazo et al., 2018).

Otro factor importante para considerar que CaMKII es un mediador de la metaplasticidad es que esta proteína es la más prominentemente asociada, estructural y funcionalmente, con la subunidad GluN2B (Opazo et al. 2018), que, como mencionamos en líneas previas, está altamente implicada en la expresión de metaplasticidad.

Asimismo, es importante considerar la contribución de las proteínas fosfatasas como la calcineurina a la regulación metaplástica observada en el presente estudio. Esta fosfatasa dependiente de calcio-calmodulina está ampliamente involucrada en la generación de LTD y tiene estrecha relación funcional con CaMKII y GluN2B (Collingridge et al., 2010; Tarasova et al., 2013; Goodell et al., 2017). Investigación reciente ha comenzado a evidenciar su participación en procesos de plasticidad homeostática. En este sentido, Mukherjee y colaboradores exploraron la participación de la calcineurina en la regulación metaplástica de la memoria de preferencia a olores (Mukherjee et al. 2018). Por otra parte, Arendt y colaboradores evidenciaron que la calcineurina es un mediador del escalamiento sináptico, otra forma de plasticidad homeostática. En preparaciones *in vitro*, mostraron que tanto el bloqueo farmacológico como el genético de la actividad de esta fosfatasa impedía el incremento de la excitabilidad sináptica generado por la reducción prolongada de actividad excitatoria (Arendt et al., 2015). Adicionalmente, nuestro grupo de investigación reportó recientemente que la inhibición de la calcineurina revierte el efecto homeostático que la extinción del CAS ejerce sobre la expresión posterior de LTP en la vía BLA-CI,

aportando evidencia de la importancia de esta fosfatasa como mediador de la metaplasticidad (Rivera-Olvera et al., 2018).



La serie de mecanismos celulares que subyacen al sutil balance en la actividad de cinasas y fosfatasa involucradas en la generación de LTD y LTP durante la

regulación homeostática, se esquematizan en la propuesta de la figura 14, que resume las evidencias descritas en líneas anteriores.

10. Perspectivas

Los resultados aquí obtenidos dan pie a investigar los mecanismos moleculares del fenómeno reportado, particularmente, la participación de calcineurina y de CaMKII. Adicionalmente, será de gran relevancia explorar el efecto metaplástico de la extinción del CAS sobre la LTD en la vía BLA-CI. Finalmente, es importante explorar la participación de calcineurina y CaMKII tanto en la LTD de la vía BLA-CI como en la extinción del CAS.

Este conjunto de experimentos, en integración con los resultados previos de nuestro grupo de investigación, nos brindarán un panorama amplio acerca de los mecanismos celulares asociados a la plasticidad hebbiana y homeostática que orquestan el almacenamiento de información en la corteza cerebral.

11. Conclusiones

Los resultados derivados del presente estudio muestran que:

1. El entrenamiento en el CAS bloquea la subsecuente inducción de LTD generada por estimulación de baja frecuencia 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 LTD generada por estimulación de baja frecuencia en la vía BLA-CI es persistente por lo menos hasta 48 horas después del entrenamiento.

Referencias

- Abbott LF y Nelson SB. 2000. Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat. Neurosci.* 3 Suppl 1, 1178-1183.
- Abraham WC. 2008. Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nat. Rev. Neurosci.*, 9(5), 387-399.
- Abraham WC y Bear MF. 1996. Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci.*, 19(4), 126-130.
- Abraham WC, Jones OD y Glanzman DL. 2019. Is plasticity of synapses the mechanism of long-term memory storage? *npj Sci Learn.* 4(1).
- An S, Yang J, Sun H, Kilb W y Luhmann, HJ. 2012. Long-term potentiation in the neonatal rat barrel cortex in vivo. *J. Neurosci.*, 32 (28), 9511-6.
- Arendt KL, Zhang Z, Ganesan S, Hintze M, Shin MM, Tang Y, Cho A, Graef IA y Chen L. 2015. Calcineurin mediates homeostatic synaptic plasticity by regulating retinoic acid synthesis. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 112(42):E5744–52.
- Barco A, Alarcón JM y Kandel ER. 2002. Expression of Constitutively Active CREB Protein Facilitates the Late Phase of Long-Term Potentiation by Enhancing Synaptic Capture. *Cell.* 108, 689-703.
- Barnes CA. 1979. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol.* 93, 74-104.
- Barnes CA y McNaughton BL. 1985. An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behav. Neurosci.* 99, 1040-1048.
- Bayer KU y Schulman H. 2019. CaM Kinase: Still Inspiring at 40. *Neuron.* 103, 380-394.
- Bear MF. 2003. Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 358 (1432), 649-655.
- Bear MF. 1996. A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93 (24), 13453-13459.
- Bear MF, Connors BW y Paradiso MA. 2016. *Neuroscience, exploring the brain* (4th ed). Wolters Kluwer
- Bennett MR, Arnold JC, Hatton SN y Lagopoulos J. 2017. Regulation of fear extinction by long-term depression: The roles of endocannabinoids and brain derived neurotrophic factor. *Behav. Brain Res.* 319, 148-164.
- Bermúdez-Rattoni F. 2004. Molecular mechanisms of taste recognition memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 5(3), 209-217
- Bienenstock EL, Cooper LN y Munro PW. 1982. Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J. Neurosci.*, 2(1), 32–48.
- Bliss TVP y 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 (2), 331-56.
- Bliss TVP y Collingridge GL. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature.* 361, 31-39.
- Bliss TVP, Collingridge GL, Morris RGM y Reymann, KG. 2018. Long-term potentiation in the hippocampus: discovery, mechanisms and function. *Neuroforum.* 24(3), A103-A120.
- Boehm J, Kang M, Johnson RC, Esteban JM, Huganir RL y Malinow R. 2006. Synaptic Incorporation of AMPA Receptors during LTP Is Controlled by a PKC Phosphorylation Site on GluR1. *Neuron.* 51, 213-225.
- Bouton ME, Todd TP, Vurbic D y Winterbauer NE. 2011. Renewal after the extinction of free operant behavior. *Learning & Behavior.* 39(1), 57-67.
- Bower GH y Hilgard ER. 1989. *Teorías del aprendizaje* (Segunda edición). México: Trillas.

- Bridi MCD, De Pasquale R, Lantz CL, Gu Y, Borrell A, Choi SY, He K, Tran T, Hong SZ, Dykman A, Lee HK, Quinlan EM y Kirkwood A. 2018. Two distinct mechanisms for experience-dependent homeostasis. *Nat Neurosci.* 21(6), 843–50.
- Chen X, Garelick MG, Wang H, Li VK, Athos JI y Storm DR. 2005. PI3 kinase signaling is required for retrieval and extinction of contextual memory. *Nat. Neurosci.* 8, 925-931.
- Chiu AM, Wang J, Fiske MP, Hubalkova P, Barse L, Gray JA y Sanz-Clemente A. 2019. NMDAR-Activated PP1 Dephosphorylates GluN2B to Modulate NMDAR Synaptic Content. *Cell Rep.* 28(2), 332-341.
- Chun S, Bayazitov IT, Blundon JA y Zakharenko SS. 2013. Thalamocortical long-term potentiation becomes gated after the early critical period in the auditory cortex. *J. Neurosci.* 33(17), 7345-7357.
- Citri A y Malenka RC. 2008. Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology.* 33, 18-41.
- Collingridge GL, Kehl SJ, y McLennan, HA. 1983. Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J. Physiol.* 334, 33-46.
- Cooke SF y Bear MF. 2010. Visual experience induces long-term potentiation in the primary visual cortex. *J. Neurosci.* 30(48), 16304-16313.
- Cooper LN y Bear MF. 2012. The BCM theory of synapse modification at 30: interaction of theory with experiment. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 798-810.
- Coultrap SJ, Freund RK, O'Leary H, Sanderson JL, Roche KW, Dell'Acqua ML y Bayer KU. 2014. Autonomous CaMKII mediates both LTP and LTD using a mechanism for differential substrate site selection. *Cell Rep.* 13;6(3), 431–437.
- Dalton GL, Wu DC, Wang YT, Floresco SB y Phillips AG. 2012. NMDA GluN2A and GluN2B receptors play separate roles in the induction of LTP and LTD in the amygdala and in the acquisition and extinction of conditioned fear. *Neuropharmacology.* 62, 797-806.
- Diering GH y Hugarir RL. 2018. The AMPA Receptor Code of Synaptic Plasticity. *Neuron.* 100, 314-329.
- Dudai Y. 2004. The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annu. Rev. Psychol.* 55(1), 51–86.
- Dudai Y. 2007. Memory. En H.L.I. Roediger, Y. Dudai y S.M. Fitzpatrick (Eds.), *Science of Memory: Concepts*, (pp. 13–16), New York: Oxford University Press.
- Dudai Y, Karni A y Born J. 2015. The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron.* 88, 20-32.
- Dudai Y y Morris RGM. 2000. To consolidate or not to consolidate: What are the questions? En J.J. Bolhuis (Ed.), *Brain, Perception, Memory. Advances in Cognitive Sciences*, (pp. 149–162), New York: Oxford University Press.
- Dudek SM y Bear MF. 1992. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89(10), 4363–4367.
- Engert F y Bonhoeffer T. 1999. Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature.* 399, 66-70.
- Escobar ML, Alcocer I y Chao VA. 1998. The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Res.* 812, 246-251.
- Escobar ML, Chao VA y Bermúdez-Rattoni F. 1998b. In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Res.* 779, 314-319.
- Escobar ML y Bermúdez-Rattoni, F. 2000. Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Res.* 852, 208-212.

- Escobar ML y Derrick B. 2007. Long-term potentiation and depression as putative mechanisms for memory formation. En: Bermúdez-Rattoni, F. (ed.), *Neural plasticity and memory. From genes to brain imaging.* (pp. 1-24). Boca Raton: CRC Press/Taylor and Francis.
- Feldman DE. 2012. The Spike-Timing Dependence of Plasticity. *Neuron*. 75, 556-571.
- Foy MR, Stanton ME, Levine SD y Thompson RF. 1987. Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*. 48(1), 138-49.
- Fox K y Stryker M. 2017. Integrating Hebbian and homeostatic plasticity: introduction. *Philos. Trans. R. Soc. B*. 372, 1-6
- Frey U, Krug MG, Reymann KG y Matthies H. 1988. Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res*. 452, 57-65.
- Fukazawa Y, Saitoh Y, Ozawa F, Ohta Y, Mizuno K, Inokuchi K. 2003. Hippocampal LTP Is Accompanied by Enhanced F-Actin Content within the Dendritic Spine that Is Essential for Late LTP Maintenance In Vivo. *Neuron*. 38(3), 447-60.
- Gambino F, Pagès S, Kehayas V, Baptista DL, Tatti R, Carleton A y Holtmaat A. 2014. Sensory-evoked LTP driven by dendritic plateau potentials in vivo. *Nature*. 515, 116-119.
- Gerfen CR y Clavier RM. 1979. Neural inputs to the prefrontal agranular insular cortex in the rat: Horseradish peroxidase study. *Brain Res. Bull.* 4, 347-353.
- Goodell DJ, Zaegel V, Coultrap SJ, Hell JW y Bayer KU. 2017. DAPK1 Mediates LTD by Making CaMKII/GluN2B Binding LTP Specific. *Cell Rep*. 2017. 19(11), 2231-2243.
- Guo Y, Zhang W, Chen X, Fu J, Cheng W, Song D, Qu X, Yang Z y Zhao K. 2017. Timing-dependent LTP and LTD in mouse primary visual cortex following different visual deprivation models. *PloS one*. 12(5), e0176603.
- Hager AM, Gagolewicz PJ, Rodier S, Kuo M y Dringenberg HC. 2015. Metaplastic up-regulation of LTP in the rat visual cortex by monocular visual training: Requirement of task mastery, hemispheric specificity, and NMDA-GluN2B involvement. *Neuroscience*. 293, 171-186.
- He Y, Kulasiri D y Samarasinghe S. 2016. Modelling bidirectional modulations in synaptic plasticity: A biochemical pathway model to understand the emergence of long-term potentiation (LTP) and long term depression (LTD). *J. Theor. Biol.* 403, 159-177.
- Hebb DO. 1949. *The Organization of Behavior*. New York: John Wiley & Sons.
- Herry C, Ferraguti F, Singewald N, Letzkus JJ, Ehrlich I y Lüthi A. 2010. Neuronal circuits of fear extinction. *Eur. J. Neurosci*. 31(4), 599-612.
- Hirsch JC y Crépel F. 1990. Use-dependent changes in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro. *J. Physiol*. 427, 31-49.
- Hong I, Kim J, Lee J, Park S, Song B, Kim J, An B, Park K, Lee HW, Lee S, Kim SY, Park S, Eom KD, Lee S y Choi S. 2011. Reversible Plasticity of Fear Memory-Encoding Amygdala Synaptic Circuits Even after Fear Memory Consolidation. *PloS one*. 6(9): e24260
- Huganir RL y Nicoll RA. 2013. AMPARs and synaptic plasticity: The last 25 years. *Neuron*. 80(3), 704-717.
- Hulme SR, Jones OD, Raymond CR, Sah P y Abraham WC. 2014. Mechanisms of heterosynaptic metaplasticity. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 369(1633).
- Ito M, Sakurai M y Tongroach P. 1982. Climbing fibre induced depression of both mossy fibre responsiveness and glutamate sensitivity of cerebellar Purkinje cells. *J. Physiol*. 324, 113-34.
- Jedlička P. 2002. Synaptic plasticity, metaplasticity and BCM theory. *Bratislavské lekarske listy*, 103 4-5, 137-143.

- Jones MW, French PJ, Bliss TV y Rosenblum K. 1999. Molecular mechanisms of long-term potentiation in the insular cortex in vivo. *J. Neurosci.* 19(21), RC36.
- Josselyn SA y Frankland PW. 2018. Memory Allocation: Mechanisms and Function. *Annu. Rev. Neurosci.* 41(1), 389-413.
- Juárez-Muñoz Y, Ramos-Languren LE y Escobar ML. 2017. CaMKII Requirement for in Vivo Insular Cortex LTP Maintenance and CTA Memory Persistence. *Front. Pharmacol.* 139, 56-62.
- Kandel ER y Hawkins RD. 1992. The biological basis of learning and individuality. *Scientific American*, 267(3), 78-86.
- Kandel ER, Schwartz, JH, Jessel, TM, Siegelbaum, SA, Hudspeth, AJ. 2013. *Principles of neural science* (5th ed.). New York: McGraw Hill.
- Keck T, Hübener M, Bonhoeffer T. 2017. Interactions between synaptic homeostatic mechanisms: an attempt to reconcile BCM theory, synaptic scaling, and changing excitation/inhibition balance. *Curr Opin Neurobiol.* 43, 87–93.
- Kim J, Lee S, Park K, Hong I, Song B, Son G, Park H, Kim WR, Park E, Choe H, Kim SY, Lee C, Sun W, Kim K, Shin KS y Choi S. 2007. Amygdala depotentiation and fear extinction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 52, 20955-20960.
- Kinomura S, Kawashima R, Yamada K, Ono S y Fukuda H. 1994. Functional anatomy of taste perception in the human brain studied with positron emission tomography. *Brain Res.* 659, 263-266.
- Komatsu Y, Fujii K, Maeda J, Sakaguchi H y Toyama K. 1988. Long-term potentiation of synaptic transmission in kitten visual cortex. *J. Neurophysiology.* 59(1), 124-41.
- Krucker T, Siggins GR, Halpain S. 2000. Dynamic actin filaments are required for stable long-term potentiation (LTP) in area CA1 of the hippocampus. 97(12), 6856-6861.
- Lacagnina AF, Brockway ET, Crovetti CR, Shue F, McCarty MJ, Sattler KP, Lim SC, Santos SL, Denny CA y Drew MR. 2019. Distinct hippocampal engrams control extinction and relapse of fear memory. *Nat. Neurosci.* 22(5), 753-761.
- Lamprecht R y LeDoux JE. 2004. Structural plasticity and memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 45-54.
- LeDoux JE. 1993. Emotional memory: in search of systems and synapses. *Ann. NY Acad. Sci.* 702, 149-57.
- Li WG, Liu MG, Deng S, Liu YM, Shang L, Ding J, Hsu TT, Jiang Q, Li Y, Li F, Zhu MX y Xu TL. 2016. ASIC1a regulates insular long-term depression and is required for the extinction of conditioned taste aversion. *Nat. Commun.* 7, 13770.
- Lin C, Lee C y Gean P. 2003a. Involvement of a calcineurin cascade in amygdala depotentiation and quenching of fear memory. *Mol. Pharmacol.* 63(1), 44-52.
- Liu XW, Ramirez S, Pang PT, Puryear CB, Govindarajan A, Deisseroth K y Tonegawa S. 2012. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature.* 484, 381-385.
- Lu Y, Zhang M, Lim IA, Hall DD, Allen M, Medvedeva Y, McKnight GS, Usachev YM y Hell JW. 2008. AKAP150-anchored PKA activity is important for LTD during its induction phase. *J. Physiol.* 586, 4155–4164.
- Lüthi A, Wikström M, Palmer MJ, Matthews P, Benke T, Isaac JT y Collingridge GL. 2004. Bi-directional modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *BMC Neurosci.* 5(44).
- Lynch GS, Dunwiddie T, Gribkoff V. 1977. Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature.* 266, 737-739.
- Lynch MA. 2004. Long-term potentiation and memory. *Physiol. Rev.* 84(1), 87-136.
- Ma T, Cheng Y, Hellard EA, Wang X, Lu J, Gao X, Huang CC, Wei X, Ji J y Wang J. 2018. Bidirectional and long-lasting control of alcohol-seeking behavior by corticostriatal LTP and LTD. *Nat. Neurosci.* 21, 373-383.

- MacDonald JF, Jackson MF y Beazely MA. 2006. Hippocampal long-term synaptic plasticity and signal amplification of NMDA receptors. *Crit. Rev. Neurobiol.* 18(1-2), 71-84.
- Malenka RC y Bear MF. 2004. LTP and LTD: an Embarrassment of Riches. *Neuron.* 44, 5-21.
- Maroun M, Kavushansky A, Holmes AM, Wellman CL y Motanis H. 2012. Enhanced Extinction of Aversive Memories by High-Frequency Stimulation of the Rat Infralimbic Cortex. *PLoS one.* 7(5): e35853.
- Marek R, Coelho CM, Sullivan RK, Baker-Andresen D, Li X, Ratnu VS, Dudley KJ, Meyers DM, Mukherjee C, Cole PA, Sah PH y Bredy TW. 2011. Paradoxical enhancement of fear extinction memory and synaptic plasticity by inhibition of the histone acetyltransferase p300. *J. Neurosci.* 31 (20), 7486-7491.
- Martinez J y Derrick BE. 1996. Long-term potentiation and learning. *Annu. Rev. Psychol.* 47, 173-203.
- Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC y Kasai H. 2004. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature.* 429, 761-766.
- Mauceri D, Cattabeni F, Di Luca M y Gardoni F. 2004. Printed in calmodulin-dependent protein kinase II phosphorylation drives synapse-associated protein 97 into spines. *J. Biol. Chem.* 279(22), 23813–23821.
- McGaugh JL. 1973. Learning and memory: an introduction. EEUU: Albion Pub. Co.
- McGaugh JL, Castellano C y Brioni JD. 1990. Picrotoxin enhances latent extinction of conditioned fear. *Behavioral neuroscience.* 104(2), 264-7.
- McGaugh JL. 2000. Memory - A century of consolidation. *Science.* 287(5451), 248-251.
- McKernan MG y Shinnick-Gallagher P. 1997. Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro. *Nature.* 390, 607-611.
- Milner B, Squire LR y Kandel ER. 1998. Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron.* 20, 445-468.
- Molnár E. 2011. Long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Semin. Cell. Dev. Biol.* 22(5), 506-513 .
- Moriguchi S, Han F, Nakagawasai O, Tadano T y 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), 22-29 .
- Morris RG, Anderson EG, Lynch GS y Baudry M. 1986. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature.* 319, 774-776.
- Morrison GL, Fontaine CJ, Harley CW y 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), 141-152.
- Mukherjee B, Harley CW, Yuan Q. 2017. Learning-Induced Metaplasticity? Associative Training for Early Odor Preference Learning Down-Regulates Synapse-Specific NMDA Receptors via mGluR and Calcineurin Activation. *Cereb. Cortex.* 27(1), 616–24.
- Myers KM y Davis MT. 2002. Behavioral and Neural Analysis of Extinction. *Neuron.* 36, 567-584.
- Myers KM, Ressler KJ y Davis M. 2006. Different mechanisms of fear extinction dependent on length of time since fear acquisition. *Learn. Mem.* 13 (2), 216-223.
- Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY y Malinow R. 2014. Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature.* 511(7509), 348–352.
- Naro A, Russo M, Leo A, Bramanti P, Quartarone A y Calabrò RS. 2015. A Single Session of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Over the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Patients With Unresponsive Wakefulness Syndrome: Preliminary Results. *Neurorehabil. Neural Repair.* 29(7), 603-613.
- Nelson SB y Turrigiano GG. 2008. Strength through Diversity. *Neuron.* 60, 477-482.
- Nicoll RA. 2017. A Brief History of Long-Term Potentiation. *Neuron.* 93, 281-290.

- Nicholls RE, Alarcón JM, Malleret G, Carroll RC, Grody MB, Vronskaya S y Kandel ER. 2008. Transgenic Mice Lacking NMDAR-Dependent LTD Exhibit Deficits in Behavioral Flexibility. *Neuron*. 58, 104-117.
- Norgren R y Leonard CM. 1971. Taste pathways in rat brainstem. *Science*. 173(4002), 1136-1139.
- O'Brien RJ, Kamboj S, Ehlers MD, Rosen KR, Fischbach GD y Hugarir RL. 1998. Activity-Dependent Modulation of Synaptic AMPA Receptor Accumulation. *Neuron*. 21, 1067-1078.
- Oh WC, Hill TC, Zito K. 2013. Synapse-specific and size-dependent mechanisms of spine structural plasticity accompanying synaptic weakening. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110(4), E305-E312.
- Oliet SHR, Malenka RC y Nicoll RA. 1997. Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron*. 18(6), 969-982.
- Paxinos G y Watson C. 2007. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (6th ed.). London: Academic Press.
- Peineau S, Taghibiglou C, Bradley C, Wong TP, Liu L, Lu J, Lo E, Wu D, Saule E, Bouschet T, Matthews P, Isaac JTR, Bortolotto ZAA, Wang YT, Collingridge, GL. 2007. LTP Inhibits LTD in the Hippocampus via Regulation of GSK3 β . *Neuron*. 53(5), 703-717.
- Pérez-Otaño I y Ehlers MD. 2005. Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci*. 28, 229-238.
- Philpot BD, Sekhar AK, Shouval HZ y Bear MF. 2001. Visual Experience and Deprivation Bidirectionally Modify the Composition and Function of NMDA Receptors in Visual Cortex. *Neuron*. 29, 157-169.
- Poo M, Pignatelli M, Ryan TJ, Tonegawa S, Bonhoeffer T, Martin KC, Rudenko A, Tsai L, Tsien RW, Fishell GJ, Mullins C, Gonçalves JT, Shtrahman M, Johnston ST, Gage FH, Dan Y, Long J, Buzsáki G y Stevens C. 2016. What is memory? The present state of the engram. *BMC Biol*. 14, 1-18.
- Pozo K y Goda Y. 2010. Unraveling Mechanisms of Homeostatic Synaptic Plasticity. *Neuron*. 66, 337-351.
- Pritchard TC, Hamilton RB, Morse JR y Norgren R. 1986. Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the monkey, *Macaca fascicularis*. *J. Comp. Neurol*. 244(2), 213-228.
- Quinlan EM, Lebel D, Brosh I y Barkai E. 2004. A Molecular Mechanism for Stabilization of Learning-Induced Synaptic Modifications. *Neuron*. 41, 185-192.
- Ramiro-Cortés Y, Israely I. 2013. Long Lasting Protein Synthesis- and Activity-Dependent Spine Shrinkage and Elimination after Synaptic Depression. *PLoS One*. 8(8).
- Rebola NA, Carta M, Lanore F, Blanchet C y Mulle C. 2011. NMDA receptor-dependent metaplasticity at hippocampal mossy fiber synapses. *Nat. Neurosci*. 14, 691-693.
- Reutter K y Witt M. 1993. Morphology of vertebrate taste organs and their nerve supply. En S.A. Simon y S.D. Roper (Eds.), *Mechanisms of Taste Transduction* (pp. 29-82), Boca Raton: CRC Press.
- Riout-Pedotti M, Friedman DD, Hess G y Donoghue JP. 1998. Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nat. Neurosci*. 1, 230-234.
- Riout-Pedotti M, Friedman D y Donoghue JP. 2000. Learning-induced LTP in neocortex. *Science*. 290(5491), 533-536.
- Rivera-Olvera A, Rodríguez-Durán LF y Escobar ML. 2016. Conditioned taste aversion prevents the long-lasting BDNF-induced enhancement of synaptic transmission in the insular cortex: A metaplastic effect. *Neurobiol. Learn. Mem*. 130, 71-76.
- Rivera-Olvera A, Nelson-Mora J, Gonsebatt ME y Escobar ML. 2018. Extinction of aversive taste memory homeostatically prevents the maintenance of in vivo insular cortex LTP: Calcineurin participation. *Neurobiol. Learn. Mem*. 154, 54-61.

- Rodríguez-Durán LF, Castillo DV, Moguel-González M y Escobar ML. 2011. Conditioned taste aversion modifies persistently the subsequent induction of neocortical long-term potentiation in vivo. *Neurobiol. Learn. Mem.* 95, 519-526.
- Rodríguez-Durán LF y Escobar ML. 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 LF, Martínez-Moreno A, Escobar ML. 2017. Bidirectional modulation of taste aversion extinction by insular cortex LTP and LTD. *Neurobiol. Learn. Mem.* 142, 85-90.
- Rogan MT, Stäubli UV y LeDoux JE. 1997. Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature.* 390, 604-607.
- Ruan H, Saur T y Yao W. 2014. Dopamine-enabled anti-Hebbian timing-dependent plasticity in prefrontal circuitry. *Front. Neural Circuits.* 8(38), 1-12.
- Schafe GE, Sollars SI y Bernstein IL. 1995. The CS-US interval and taste aversion learning: a brief look. *Behavioral Neuroscience.* 109(4), 799-802.
- Shen H y Kalivas PW. 2013. Reduced LTP and LTD in prefrontal cortex synapses in the nucleus accumbens after heroin self-administration. *J. Neuropsychopharmacol.* 16(5), 1165-1167.
- Stansley BJ, Fisher NM, Gogliotti RG, Lindsley CW, Conn PJ y Niswender CM. 2017. Contextual Fear Extinction Induces Hippocampal Metaplasticity Mediated by Metabotropic Glutamate Receptor 5. *Cereb. Cortex.* 28, 4291–4304.
- Stanton PK, Winterer J, Bailey CP, Kyzozis A, Raginov IS, Laube G, Veh RW, Nguyen CQ y Müller W. 2003. Long-term depression of presynaptic release from the readily releasable vesicle pool induced by NMDA receptor-dependent retrograde nitric oxide. *J. Neurosci.* 23(13), 5936-5944.
- Taattola KL. 2004. Review on protein kinase C family members and their activation mechanisms. En T. Aho, H. Lähdesmäki y O. Yli-Harja (Eds.), *Proceedings of the 2nd TICSP Workshop on Computational Systems Biology, WCSB'2004, Silja Opera, Helsinki-St. Petersburg.*
- Taniike N, Lu Y, Tomizawa K y Matsui T. 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(1), 21-28.
- Tarasova EO, Gaydukov AE y Balezina OP. 2013. Calcineurin and Its Role in Synaptic Transmission. *Cholest Presynaptic Glutamate Transp. Brain.* 12(6), 9–15.
- Toni N, Buchs P, Nikonenko I, Bron C y Muller D. 1999. LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature.* 402, 421-425.
- Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC y Nelson SB. 1998. Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature.* 391, 892-896.
- Turrigiano GG y Nelson SB. 2000. Hebb and homeostasis in neuronal plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10, 358-364.
- Turrigiano GG y Nelson SB. 2004. Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 97-107.
- Voglis G y Tavernarakis N. 2006. The role of synaptic ion channels in synaptic plasticity. *EMBO Rep.* 7(11), 1104-1110.
- Wells DG y Fallon JR. 2000. In search of molecular memory: experience-driven protein synthesis. *Cell. Mol. Life Sci.* 57(10), 1335-1339.

- Weiner I, Tarrasch R, Hasson O, Forian R, Smith A, Rawlins J y Feldon J. 1994. The effects of chronic administration of ceronapril on the partial reinforcement extinction effect and latent inhibition in rats. *Behav. Pharmacol.* 5(3), 306-314.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG y Bear MF. 2006. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science.* 313 (5790), 1093-1097.
- Yamamoto T, Shimura T, Sako N, Azuma S, Bai W y Wakisaka S. 1992. C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *Neuroreport.* 3(12), 1049-1052.
- Yang H, Hu X, Zhang H, Xin W, Li M, Zhang T, Zhou L y Liu X. 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(3), 1122-1133.
- Zhang X, Kim J y Tonegawa S. 2019. Amygdala Reward Neurons Form and Store Fear Extinction Memory.
- Zhu G, Briz V, Seinfeld J, Liu Y, Bi X y Baudry M. 2017. Calpain-1 deletion impairs mGluR-dependent LTD and fear memory extinction. *Sci. Rep.* 7, 42788.
- Zhou Z, Liu A, Xia S, Leung C, Qi J, Meng Y, Xie W, Park P, Collingridge, GL y Jia Z. 2018. The C-terminal tails of endogenous GluA1 and GluA2 differentially contribute to hippocampal synaptic plasticity and learning. *Nat. Neurosci.* 21, 50-62.