



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

La fotoestimulación con diferentes frecuencias modula la plasticidad sináptica en la vía Corteza Insular anterior a la Amígdala Basolateral

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestro en Ciencias

PRESENTA:
Gabriela Herrera Xithe

TUTOR PRINCIPAL
Dr. Federico Bermúdez Rattoni
[Instituto de Fisiología Celular](#)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
Dr. Francisco Sotres Bayón
[Instituto de Fisiología Celular](#)
Dr. Miguel Ángel Morales Mendoza
[Instituto de Investigaciones Biomédicas](#)

Ciudad de México. Febrero, 2025



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.



PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL

(Graduación con trabajo escrito)

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado: La fotoestimulación con diferentes frecuencias modula la plasticidad sináptica en la vía Corteza Insular anterior a la Amígdala Basolateral, que presenté para obtener el grado de maestra es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente

**Gabriela Herrera
Xithe**

**N° de cuenta
313148550**

Este trabajo fue realizado en el **Laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y Memoria** a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattoni en el departamento de Neurociencia Cognitiva de la División de Neurociencias del **Instituto de Fisiología Celular, UNAM**.

Este proyecto fue posible gracias a los financiamientos otorgados por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología del programa Fondo Institucional del CONAHCYT (CF-2023-I-189) y del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) otorgado por la UNAM (DGAPA-PAPIIT-UNAM IN213123)

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Federico Bermúdez Rattoni, quien hace mucho tiempo me abrió las puertas en el laboratorio y me permitió crecer tanto como yo he querido. Gracias por guiarme en este proyecto, por la paciencia y por los comentarios a lo largo del tiempo.

Al Dr. Luis Francisco Rodríguez Durán, gracias por la asesoría durante todos estos años, por las interminables horas de apoyo escuchando mis ensayos de presentación o las revisiones de mis datos crudos, pero sobre todo por el apoyo técnico en mis experimentos.

Al Dr. Daniel Osorio Gómez, por la asesoría y comentarios en el proyecto. Gracias por recibirme siempre con los brazos abiertos en tu equipo de trabajo y ayudarme cuando lo necesitaba.

A los miembros de mi comité tutorial: el Dr. Miguel Ángel Morales Mendoza y el Dr. Francisco Sotres Bayón, por sus comentarios y su contribución durante todo el desarrollo de este proyecto.

A los miembros del jurado de grado, la Dra. Escobar Rodríguez Martha Lilia, la Dra. Arias Álvarez Ana Brígida Clorinda, al Dr. Cifuentes Navarro Fredy Romero, al Dr. Peña Ortega José Fernando y la Dra. Ramiro Cortes Yazmin, por los comentarios y la retroalimentación en la revisión de la tesis.

A la M. V. Z. Claudia V. Rivera Cerecedo, responsable de la Unidad de Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, por su apoyo en el cuidado de los animales utilizados en este proyecto; y a la Unidad de Microscopia, particularmente a la Dra. Ruth Rincón Heredia por el apoyo en la captura de imágenes en el microscopio confocal.

A mis compañeros del BL-201, pero particularmente a Karla, Arturo y Apolinar, sin ustedes los días en el laboratorio serían eternos y aburridos. Gracias por apoyarme en lo académico y en lo personal, por las risas y las lágrimas juntos. Mil gracias por los consejos y la paciencia que tienen conmigo, quiero ser como ustedes cuando sea grande (aunque soy más grande que ustedes).

A mi mejor amigo, Carlos, que a la distancia siempre sabes cómo estar para mí. Por las mil veces que no me soltaste y el cariño que he recibido de tu parte. Ya son trece (¿o catorce?) años de esta amistad y no puedo esperar a seguir compartiendo los grandes momentos contigo. Te quiero millones.

A Eduardo, que sin importar cómo, cuándo y donde sabes estar para mí. El apoyo y el amor incondicional que me has dado a lo largo de los años me ha hecho intentar ser mejor persona todos los días, a crecer en lo personal y en lo profesional, y no puedo agradecerte lo suficiente por esto. Que el paso del tiempo haga más fuerte este sentimiento, pero si algún día nuestros caminos se separan ten por seguro que mucho de lo que soy lo aprendí por ti.

Finalmente, a las tres personas más importantes en mi vida: **mamá, papá y hermano**. En los últimos años, pero sobre todo durante el proceso de la maestría, ustedes

más que nadie, han demostrado el cariño y el apoyo incondicional que tienen hacia mí. Me han ofrecido ayuda cuando no la pido e incluso cuando no sé qué la necesito y creo que nunca tendré las suficientes palabras para agradecer eso. Son lo más grande que tengo en la vida. Los amo.

Contenido

RESUMEN.....	1
MARCO TEÓRICO	2
Aprendizaje y Memoria.....	2
Plasticidad sináptica	3
Generalidades de la potenciación a largo plazo	4
Generalidades de la depresión a largo plazo	9
Corteza Insular	11
Localización	11
Funciones de la corteza insular	12
Amígdala.....	14
Localización y anatomía.....	14
Amígdala basolateral (BLA).....	17
Funciones de la amígdala	19
ANTECEDENTES.....	21
Conexión corteza insular a la amígdala basolateral	21
Funciones de la vía CI-BLA.....	22
HIPÓTESIS.....	24
OBJETIVOS	24
Objetivo General	24
Objetivos Particulares	25
MÉTODO.....	25
Animales	25
LTP eléctrica.....	26
Registros electrofisiológicos con estimulación optogenética.....	27
Farmacología.....	29
Curvas entrada-salida (I/O)	30
Inmunofluorescencia	30
Tinción de Nissl	31
Análisis estadístico.....	31
RESULTADOS	32
Caracterización electrofisiológica de la vía CIa-BLA	32
Estimulación eléctrica de alta frecuencia produce LTP en la vía CIa-BLA	33

.....	34
Plasticidad sináptica de la vía C1a-BLA inducida por optogenética	34
Estimulación optogenética de 20 HZ produce LTP en la vía C1a-BLA	34
Estimulación optogenética de 1 Hz no produce cambios en la plasticidad sináptica.....	38
Estimulación optogenética de 10 Hz produce LTD en la vía C1a-BLA	40
Inhibición farmacológica de la vía C1a-BLA	43
La aplicación de APV elimina la LTP optogenética y desenmascara una LTP no dependiente de receptores NMDA	43
La aplicación de CNQX elimina la LTP y LTD optogenética.....	46
DISCUSIÓN	49
La señal de la vía C1a-BLA presenta similitudes con la señal BLA-C1.....	49
La vía C1a-BLA presenta cambios en la plasticidad sináptica de manera bimodal.....	50
El antagonismo de los receptores NMDA en la vía C1a-BLA desenmascara una LTP independiente de los mismos.....	52
Perspectivas.....	55
CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS.....	57

RESUMEN

El aprendizaje y la memoria favorecen la eficacia de la transmisión sináptica en respuesta a la actividad, este fenómeno se denomina plasticidad sináptica. Las principales expresiones de plasticidad son la potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD), que se caracterizan por un aumento o una disminución duraderas de la eficiencia sináptica, respectivamente. La LTP y LTD se han estudiado principalmente en el hipocampo y la neocorteza. Una de las áreas neocorticales donde se presentan dichos fenómenos es la proyección que va del núcleo basolateral amigdalino (BLA) a la corteza insular (CI). Clásicamente se ha considerado que el flujo de información en el SNC está mediado por vías ascendentes (bottom-up), sin embargo, también existe un flujo de información de forma descendente (top-down) que está impulsado por la memoria y las expectativas del individuo. En este sentido, se ha reportado una importante conexión de la CI a la BLA. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar los cambios en la plasticidad sináptica del circuito neuronal descendente de la CI anterior (CIa) a la BLA, tanto de manera eléctrica como de manera optogenética. Esto nos permitió encontrar que la vía CIa-BLA muestra una modulación sináptica bimodal; mientras que la estimulación optogenética de 20Hz es capaz de generar una LTP, la estimulación de 10Hz genera una LTD. En su mayoría, los cambios en plasticidad son dependientes de los receptores NMDA y AMPA, sin embargo, el antagonismo de los receptores NMDA y una estimulación de 10Hz desenmascaró una LTP independiente de los receptores NMDA. Este trabajo es el primero en reportar los cambios en plasticidad sináptica de la vía CIa-BLA y abren la puerta a explorar los cambios conductuales dados por la manipulación de dichos cambios plásticos.

MARCO TEÓRICO

Aprendizaje y Memoria

La memoria y el aprendizaje son funciones cognitivas importantes para los organismos. Mientras que el aprendizaje se puede definir como la adquisición de información nueva, la memoria se define como la función en la que se codifica, almacena y recupera la información (Bear et al., 2016; Kandel & Squire, 2000). Para el estudio del aprendizaje y la memoria es útil hacer una división del estadio temporal de la información: adquisición, consolidación y evocación (Bear et al., 2016). La *adquisición* refiere el proceso por el cual se obtiene información del medio, esta información se mantiene como una memoria de corto plazo la cuál puede mantenerse desde segundos a minutos, eventualmente la información puede *consolidarse* en una memoria de largo plazo en donde la información puede durar incluso por años. Finalmente, dicha información puede ser *evocada* por el organismo y verse expresada en algún tipo de conducta (Bear et al., 2016; Sweatt, 2010). Se ha descrito diversos procesos fisiológicos que sustentan la consolidación de la memoria, entre ellos los cambios morfológicos de las neuronas, la interacción de neurotransmisores y neuromoduladores, la modulación de redes neuronales y de particular importancia la síntesis de proteínas de novo (Bisaz et al., 2014; Duzskiewicz et al., 2019; Guzmán-Ramos et al., 2018). Estos procesos fisiológicos pueden suceder en los primeros minutos y en las horas posteriores de la adquisición de la información (Redondo & Morris, 2011). Los mecanismos celulares que subyacen a la consolidación de la memoria se han reportado en diferentes especies, incluidos humanos y roedores (Bisaz et al., 2014; Bliss & Cooke, 2011; Bliss & Lømo, 1973; Nicoll, 2017).

Otra forma de estudiar a la memoria es dividirla en memoria declarativa (o explícita) y no declarativa (implícita) (Bear et al., 2016; Kandel & Squire, 2000; Squire & Zola, 1996; Sweatt, 2010). La memoria declarativa se refiere al tipo de memoria que permite evocar explícitamente datos semánticos y hechos autobiográficos. La memoria no declarativa contiene tipos de memoria que no pueden ser evocadas explícitamente por el organismo, esta incluye la memoria de tipo asociativa, no asociativa y la memoria de tipo procedimental (Squire & Zola, 1996). A esta división se le conoce como modelo de memoria múltiples y señala que en el sistema nervioso central (SNC) los tipos de memorias dependen de áreas específicas, por ejemplo, la actividad del lóbulo temporal medial se ha asociado a la memoria de tipo declarativa, mientras que la actividad del estriado, el cerebelo y la amígdala se ha asociado a la memoria de tipo no declarativa (Sweatt, 2010).

Plasticidad sináptica

Como se mencionó, el aprendizaje y la memoria están representados por circuitos neuronales ampliamente interconectados, dichas conexiones están mediadas por sinapsis que permiten que una neurona transmita una señal eléctrica o química a otra neurona, lo que favorece la eficacia de la transmisión sináptica en respuesta a la actividad, este fenómeno se denomina plasticidad sináptica (Goto, 2022; Hebb, 1949; Josselyn & Tonegawa, 2020). Donald Hebb propuso que, si dos neuronas están activas al mismo tiempo, se fortalecerá la eficiencia sináptica de la sinapsis correspondiente (Hebb, 1949).

Dos de las expresiones de plasticidad sináptica subyacentes al almacenamiento de información es la potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD), estas se caracterizan por un aumento o una disminución duraderos de la eficiencia sináptica, respectivamente (Collingridge et al., 2010; Lynch, 2004; Matsuzaki et al., 2004).

Generalidades de la potenciación a largo plazo

La LTP constituye un fenómeno considerado como esencial para la formación de la memoria (Lynch, 2004). La primera descripción completa de la LTP por Bliss y Lomo en 1973 reportó que los trenes de estimulación de alta frecuencia en la vía perforante del conejo causaron un aumento sostenido en la eficiencia de la transmisión sináptica en las células granulares del giro dentado. Este trabajo y otros, confirmaron la naturaleza hebbiana de los cambios sinápticos que sustentan ciertas formas de aprendizaje y memoria, y como pueden ser similares a la expresión de la LTP (Bliss & Lømo, 1973; Lynch, 2004).

La LTP, para su análisis, puede dividirse en tres estados: inducción, expresión y mantenimiento. La inducción es un proceso de señalización celular que puede ser desencadenado directamente por estimulación tetánica. La señalización resultante induce un cambio en la sinapsis que puede detectarse como un aumento en la transmisión sináptica, lo que se denomina expresión. Una vez que se mejora la transmisión, el mecanismo de mantenimiento preserva el estado a pesar de la difusión y el recambio de las moléculas componentes, incluidas las fosfatasa y cinasas (Hayashi, 2022). En el caso de la expresión y el mantenimiento de la LTP, aún es debatible si los cambios se encuentran en la presinapsis o postsinapsis. Se ha reportado aumentos en la liberación de neurotransmisor, lo que indicaría cambios en la presinapsis (Stevens & Wang, 1994), pero también se ha reportado cambios en la conformación y tráfico de los receptores AMPA para la expresión y mantenimiento de la LTP, por lo que aún no hay consenso (Hayashi, 2022).

Durante la inducción de LTP la actividad sináptica promueve la liberación presináptica del neurotransmisor glutamato, el cual activa los receptores ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AMPA). La activación de dichos receptores da

lugar a la entrada de iones de sodio al interior de la célula, contribuyendo a la despolarización de la membrana post-sináptica. La despolarización elimina el bloqueo de magnesio de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (Goto, 2022; Kauer & Malenka, 2007; Pape & Pare, 2010). A pesar de presentar receptores que son activados con el glutamato, es necesaria la despolarización de la membrana para que los receptores NMDA sean desbloqueados, característica que los hace importantes para la plasticidad sináptica. La apertura de los receptores NMDA permite la entrada de iones de sodio y calcio (Goto, 2022; Maroun, 2006). Otro mecanismo de entrada de calcio a la neurona es a través de los canales de calcio dependientes de voltaje (VGCC por sus siglas en inglés), los cuales son abiertos en respuesta a la despolarización de la membrana. Los receptores NMDA VGCC tipo L median la entrada de Ca^{2+} durante la inducción de la LTP, activando las cinasas de proteína dependientes de Ca^{2+} /calmodulina, CaMKII y CaMKIV (Dityatev & Bolshakov, 2005; Goto, 2022). Por otra parte, los receptores metabotrópicos de glutamato (mGlu) estimulan la proteína cinasa A (PKA) a través de la activación de la adenilil ciclasa y la producción de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) (Dityatev & Bolshakov, 2005). De manera general CaMKII, PKA, proteína cinasa C (PKC) y la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK/ERK) pueden enviar señales a través de la fosforilación del factor de transcripción CREB (proteína de unión al elemento de respuesta a AMPC) que activa la transcripción de una variedad de genes, incluidos los genes tempranos inmediatos y los genes efectores necesarios para las modificaciones sinápticas a largo plazo (Dityatev & Bolshakov, 2005; Eichenbaum, 2010; Galván et al., 2010; Goto, 2022; Gruart et al., 2015; Lynch, 2004).

Los primeros reportes de la participación de CaMKII en la inducción de LTP en CA1 se dieron en 1989 (Malenka et al., 1989; Malinow et al., 1989). Tras la inducción de una LTP, el aumento de la concentración postsináptica del ión Ca^{2+} desencadena la activación de CaMKII; esta tiene un dominio cinasa N-terminal, un dominio autoinhibitorio/regulador y un dominio de asociación C-terminal. Cuando CaMKII está inactiva el dominio autoinhibitorio enmascara el dominio cinasa. La unión de Ca^{2+} /calmodulina al dominio regulador desenmascara la inhibición del dominio catalítico y activa la cinasa. La activación de CaMKII aumenta transitoriamente después de la inducción de LTP y está acompañada por una mayor fosforilación de los factores de transcripción, entre ellos el factor de transcripción CREB, lo que permite la expresión de genes (Hayashi, 2022). Un efecto de la actividad de CaMKII es el aumento de la conductancia y redistribución de receptores AMPA (Barria et al., 1997) como resultado de la fosforilación de la subunidad GluA1 del receptor AMPA (Hayashi, 2022; Lynch, 2004). También se ha propuesto que la activación de CaMKII puede contribuir a los cambios morfológicos asociados al mantenimiento de una LTP, como la unión a varias proteínas de densidad postsináptica, entre ellas la β -actinina y la PSD95, la fosforilación de la proteína asociada a los microtúbulos 2 (MAP2) y del neurofilamento L, que desempeñan un papel en la regulación del citoesqueleto (Bliss & Collingridge, 1993; Lynch, 2004). De manera presináptica, CaMKII está asociada a la fosforilación de elementos de liberación del neurotransmisor, como la sinapsina y la sinaptagmina (Bliss & Collingridge, 1993).

Por otra parte, se ha demostrado que la concentración de AMPc y la activación de PKA aumentan después de la inducción de LTP (Frey et al., 1993), estos eventos en última instancia activan factores de transcripción como CREB y la subsecuente transcripción de

genes de expresión temprana (Huang & Kandel, 1994). En el caso de la actividad de PKC, esta se ha asociado a la entrada de Ca^{2+} por receptores metabotrópicos de glutamato (Bortolotto & Collingridge, 1993) y se ha reportado que tanto PKC como la CaMKII son necesarias para la inducción de LTP (Bortolotto & Collingridge, 1993; Malinow et al., 1989). Finalmente, se ha demostrado que tras inducción de LTP una de las consecuencias posteriores al aumento de la concentración de AMPc es la activación de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK/ERK) (Martin et al., 1997), la activación de ERK se ha asociado a la inducción de LTP tanto de fase temprana como tardía (McGahon et al., 1999). Los efectos de la activación de ERK involucran la traducción y transcripción de proteínas citoesqueléticas MAP-2 y Tau, las proteínas nucleares, c-fos y c-jun, entre otras, lo que requiere la translocación de ERK al núcleo (Boglári et al., 1998).

Un mecanismo importante para la expresión de la LTP implica el aumento en el número de receptores AMPA en la membrana plasmática de las sinapsis a través de cambios dependientes de la actividad en el tráfico de receptores AMPA, así como las propiedades biofísicas de estos receptores (Malenka & Bear, 2004). Se ha planteado la hipótesis de que el mecanismo de expresión y el mantenimiento del cambio en la fuerza sináptica depende de cambios en el número y/o la composición de los receptores AMPA en la membrana postsináptica; esto implica un aumento en la sensibilidad y el número de los receptores postsinápticos AMPA como resultado de su fosforilación por la CaMKII. La expresión (mantenimiento) de LTP (y LTD) puede estar mediada por la modulación reversible de la fosforilación de la subunidad GluR1 del receptor AMPA (Jedlicka, 2002; Malenka & Bear, 2004). Por otra parte, los receptores NMDA son heteroligómeros ensamblados a partir de dos tipos de subunidades, NR1 y NR2. La subunidad NR1 es un producto de un solo gen,

mientras que la subunidad NR2 está codificada por cuatro genes diferentes: NR2A–NR2D. En general los receptores NMDA están compuestos por subunidades NR1 en combinación con subunidades NR2A o NR2B (Sah et al., 2003).

Los cambios morfológicos que se han asociado al mantenimiento de la LTP incluyen el crecimiento de nuevas espinas dendríticas, el agrandamiento de espinas preexistentes, entre otros (Abraham & Williams, 2003). Los cambios en las espinas dendríticas se han asociado a cambios en el citoesqueleto, principalmente en la actina (Matus, 2000). Los cambios en la longitud de los axones y las dendritas y cambios en la morfología de los extremos axónicos y dendríticos son cambios morfológicos que se han asociado al aprendizaje y establecimiento de la memoria (Guedes-Dias & Holzbaaur, 2019), dichos cambios son dependientes de la actividad de calcio (Lehne & Bogdan, 2023; Lin et al., 2024).

Por la duración de los cambios en los potenciales postsinápticos se han descrito dos tipos de LTP, el primero es una LTP temprana (E-LTP por sus siglas en inglés) que puede durar hasta tres horas, es independiente de PKA y no requiere la síntesis de proteínas de novo (Huang & Kandel, 1994). El segundo tipo es la LTP tardía (L-LTP por sus siglas en inglés), que se puede mantener por lo menos por veinticuatro horas, para este tipo la expresión es necesaria la síntesis de proteína (Alkadhi, 2021; Jedlicka, 2002). La activación de proteínas preexistentes, como la CaMKII y la PKC, sustentan las fases iniciales (E-LTP), que pueden transformarse en fases tardías mediante la síntesis y captura específica de proteínas relacionadas con la plasticidad (Almaguer-Melian et al., 2010). Se ha propuesto que es necesaria la participación de cinasas en el mantenimiento de una LTP y memoria de largo plazo, pues la interrupción de dominios catalíticos de la proteína cinasa C ζ no permite

el establecimiento de LTP de largo plazo e interrumpe la evocación de una memoria de miedo (Tsokas et al., 2024).

Por la organización morfológica que tiene y su participación en procesos de plasticidad cerebral, la LTP se ha estudiado principalmente en el hipocampo y la neocorteza (Lynch, 2004; Nicoll, 2017). Una de las áreas neocorticales donde se presenta el fenómeno de la LTP es en la corteza insular (CI), específicamente en la proyección que va del núcleo basolateral amigdalino (BLA) a la CI (Rodríguez-Durán et al., 2017).

Generalidades de la depresión a largo plazo

La LTD se puede dividir principalmente en dos tipos: el primer tipo es la LTD de novo que se observa a partir de estimulación de baja frecuencia en condiciones basales, el segundo tipo es la LTD que se observa solo después de la inducción de LTP. La mayoría de las sinapsis que presentan LTD lo hacen a través de un mecanismo que involucra a los receptores NMDA y los receptores mGlu (Collingridge et al., 2010)

La LTD puede ser inducida por períodos prolongados de estimulación de baja frecuencia (LFS, por sus siglas en inglés), por una estimulación de pulsos pareados de baja frecuencia (PP-LFS, por sus siglas en inglés) o mediante la aplicación de un agonista del receptor apropiado (conocido como LTD química) (Collingridge et al., 2010). La LFS se da en una frecuencia que normalmente nunca supera los 10 Hz en las fibras aferentes; el protocolo típico de LFS normalmente implica aplicar 900 pulsos eléctricos de 1–3 Hz (Bear, 1996; Collingridge et al., 2010; Malenka & Bear, 2004).

Sintetizando, la inducción de LTD se da por el ingreso de Ca^{2+} a través de los receptores NMDA, este se une a la calmodulina para activar la proteína fosfatasa 2B, la

cual desfosforila el inhibidor-1, lo que conduce a la activación de la proteína fosfatasa 1. Luego, la proteína fosfatasa 1 desfosforila sus sustratos, incluido ser845 en la subunidad AMPAR GluA1 y esto es capaz de producir una LTD (Collingridge et al., 2010). En la LTD, el papel de CamKII tras la entrada de Ca^{2+} es autofosforilarse en T286 y esto permite una fosforilación adicional en T305/306, como consecuencia se suprime la unión de las subunidades GluN2B y promueve el movimiento de CamKII a las sinapsis inhibitorias (Cook et al., 2022). La expresión y mantenimiento de la LTD está mediada por cambios presinápticos y postsinápticos persistentes, entre ellos la reducción y la eliminación de elementos presinápticos y postsinápticos, como la endocitosis de los receptores AMPA (Becker et al., 2008; Collingridge et al., 2010; Yu et al., 2008), así como una reducción en la probabilidad de liberación de glutamato (Enoki et al., 2009; Stanton et al., 2003). En el caso de la LTD dependiente de los receptores mGlu, la vía de señalización canónica de los mGlu del grupo I activa la vía de la fosfolipasa C (PLC), la hidrólisis del fosfatidil inositol para generar trifosfato de inositol (IP3) y diacilglicerol (DAG), el IP3 libera Ca^{2+} de los depósitos intracelulares y activa la cinasa PKC (Collingridge et al., 2010; Kang & Kaang, 2016). Un mecanismo que promueve el mantenimiento de la LTD dependiente los receptores mGlu es que PKC fosforila ser880 de la subunidad GluA2, esto desencadena la endocitosis del receptores AMPA (Kang & Kaang, 2016; Snyder et al., 2001).

La inducción de LTP y LTD parece depender de la actividad relativa de las cinasas y las fosfatasas, mientras que la actividad predominante de la cinasa conduce a LTP (a través de la fosforilación de varios sustratos), la actividad predominante de la fosfatasa conduce a LTD. La concentración intracelular de calcio es el principal desencadenante de la inducción de LTD/LTP (Castellani et al., 2001; Jedlicka, 2002).

Funcionalmente la LTD se ha asociado a la flexibilidad conductual, es decir, con el cambio de respuestas conductuales asociado con diferentes contextos (Nicholls et al., 2008; Rodríguez-Durán et al., 2017) y con la extinción en protocolos de condicionamiento al miedo, sin afectar la consolidación y evocación (Dalton et al., 2008). Esto sugiere que LTD puede ser un mecanismo molecular que facilita la modificación de un aprendizaje mientras deja intacta la capacidad de formar una nueva memoria. Como se observa, los receptores NMDA son desencadenantes generalizados de la plasticidad sináptica, pero no determinan la dirección del cambio en la eficiencia sináptica.

Corteza Insular

Localización

En diferentes especies se ha reportado similitudes en la ubicación anatómica de la CI (Gogolla, 2017). En primates humanos y no humanos, la CI se encuentra en el surco lateral de los hemisferios, plegada entre el lóbulo temporal, frontal y parietal; por otra parte, en roedores la CI queda expuesta por encima de la cisura rinal en los laterales de los hemisferios (Gogolla, 2017; Maffei et al., 2012). Por la citoarquitectura, la CI se puede dividir en CI agranular, granular y disgranular (Bermúdez-Rattoni, 2004; Gogolla, 2017; Maffei et al., 2012; Pushparaj et al., 2015). Mientras que la CI granular mantiene las seis capas clásicas de una corteza, en la CI disgranular aunque cuenta con capa IV esta es más delgada y finalmente, en la CI agranular la capa IV desaparece, la V y VI se juntan, al igual que la capa II y III (Gogolla, 2017; Maffei et al., 2012) (**Figura 1**). Funcionalmente de manera general, la CI disgranular juega un papel en el procesamiento de la información gustativa, la CI granular al procesamiento viscerosensorial y la CI agranular posterior con funciones de integración multimodal (Bermúdez-Rattoni, 2014). Reportes indican que esta

corteza es modulada por acetilcolina (ACh), dopamina (DA), serotonina y noradrenalina (NA) (Gogolla, 2017).

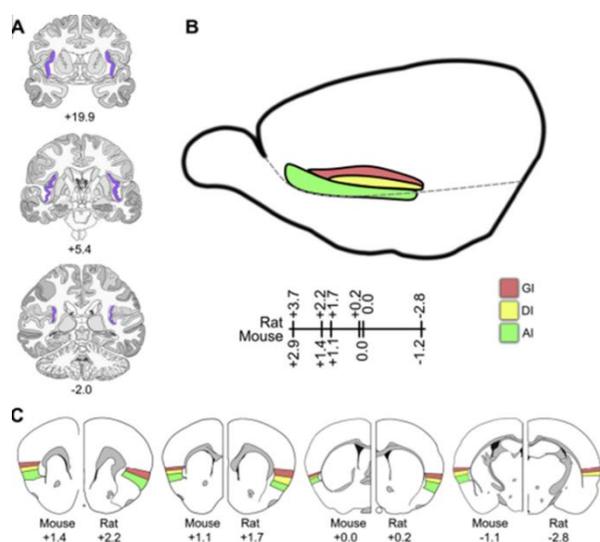


Figura 1. Anatomía de la corteza insular en diferentes especies. A) Representación esquemática del CI en humanos, las coordenadas son de la comisura anterior. B) Representación esquemática del CI en ratones y ratas a lo largo del surco rinal que muestra a la CI granular (GI), disgranular (DI) y agranular (AI). C) Representaciones esquemáticas de secciones coronales de ratones (izquierda) y ratas (derecha) en varias secciones anterior-posterior desde bregma como cero. Imagen tomada de Bermúdez-Rattoni (2014).

Funciones de la corteza insular

La actividad de la CI se ha asociado con el procesamiento de la información interoceptiva (Naqvi et al., 2014; Paulus & Stewart, 2014; Volkow et al., 2019). La interocepción se refiere al proceso por el cual un organismo puede evaluar el estado fisiológico de los órganos periféricos, esto incluye la temperatura, las sensaciones viscerales y orales en la ingesta, el dolor, el prurito, entre otros (Naqvi et al., 2014). Un ejemplo es el procesamiento de la información gustativa. En este proceso la valoración interoceptiva permite señalar al organismo si el sabor es placentero o no (asignación de la valencia), además indica la obtención de un nutriente. De esta manera la CI, particularmente la porción anterior, detecta e integra información del estado fisiológico y modula la conducta en torno a este (Paulus & Stewart, 2014; Volkow et al., 2019).

En este sentido, una de las funciones más conocidas y estudiadas de la CI es el procesamiento de la memoria gustativa (Bermúdez-Rattoni, 2004, 2014; Gogolla, 2017; Jaramillo et al., 2018), pues lesiones en esta región inhiben la formación de la memoria de reconocimiento al sabor (Bermúdez-Rattoni, 2004; Stehberg et al., 2011). Un paradigma utilizado para el estudio de la memoria gustativa es el condicionamiento de aversión al sabor (CAS), en él, un sabor novedoso se asocia con un malestar visceral, por lo tanto, se basa en el aprendizaje y la memorización de la asociación entre la ingestión de un alimento determinado y su efecto negativo en el cuerpo (Bermúdez-Rattoni, 2004; Gogolla, 2017). Se ha reportado que los cambios en la eficiencia sináptica de la vía BLA-CI se han asociado a la extinción de un CAS, mientras que la LTP fortalece el trazo de memoria aversivo e impide la extinción, la LTD facilita la extinción (Rodríguez-Durán et al., 2017). La actividad de la CI también ha mostrado tener un papel en la neofobia gustativa, fenómeno por el cual se limita la ingesta de un nuevo sabor con el fin de evaluar las consecuencias gastrointestinales, pues lesiones en esta área disminuye la neofobia gustativa para sabores preferidos y no preferidos (Stehberg et al., 2011). Esto concuerda con los datos que señalan un aumento de NA y DA en la CI antes la presentación de un sabor novedoso y de glutamato para sabores asociados a consecuencias gastrointestinales aversivas (Osorio-Gómez et al., 2021). Finalmente, se ha mostrado un aumento en la señalización de la CI antes señales de tipo visuales y auditivas que predicen la entrega de un estímulo gustativo (Vincis & Fontanini, 2016), esto puede sugerir un papel de la CI en el aprendizaje y la memoria.

Por otra parte, las adicciones son otro proceso asociado a la actividad de la CI, pues un daño en la CI interrumpe el consumo de tabaco y las recaídas en el consumo (Naqvi

et al., 2007). Estudios de neuroimagen muestra que la CI se activa ante la presencia de una sustancia de abuso o ante estímulos asociadas a sustancias de abuso (Brasser et al., 2012; Feldstein-Ewing et al., 2010; Filbey et al., 2008; Tang et al., 2012). Así mismo, la actividad de la CI anterior ha mostrado estar correlacionada con las conductas de búsqueda de sustancias de abuso (Agoitia et al., 2024; Cosme et al., 2015). Finalmente, se ha propuesto que el posible papel de la CI en las adicciones es media el componente motivacional de las sustancias de abuso al otorgar la saliencia de los estímulos asociada a la recompensa (Metereau & Dreher, 2013).

Adicionalmente, la actividad de la CI se ha asociado al procesamiento de información con una valoración emocional como la empatía (Gogolla, 2017; Lamm et al., 2010; Namkung et al., 2017), con la predicción del error (Gogolla, 2017; Jensen et al., 2007), la toma de decisiones (Gogolla, 2017; Namkung et al., 2017), entre otras funciones. En resumen, la actividad de la CI comprende una amplia variedad de funciones entre los que destacan los procesos interoceptivos y motivacionales.

Amígdala

Localización y anatomía

La amígdala es parte del sistema límbico y es una estructura crucial en el cerebro que realiza de manera general, tres funciones principales: expresión de emociones, procesamiento de la memoria y manejo de estímulos (LeDoux, 2000; Nikolenko et al., 2020). El sistema límbico consiste principalmente en el tálamo, el hipotálamo, el hipocampo, el complejo amigdalóide de núcleos, los ganglios basales y la circunvolución cingulada (Nikolenko et al., 2020).

Ubicada en la porción anterior del lóbulo temporal, la amígdala se compone de una docena de núcleos (Pape & Pare, 2010). La amígdala es una región relativamente pequeña compuesta por núcleos interconectados que incluyen el complejo basolateral de la amígdala (BLA) formado por los grupos de células laterales (LA), basales (BA) y basomediales (BM) y el núcleo central (CeA) con subdivisiones lateral (CeL) y medial (CeM) (**Figura 2**) (Janak & Tye, 2015; Maren, 2005; McCool, 2021; Sah et al., 2003; Smith & Torregrossa, 2021). La BLA consta de neuronas glutamatérgicas principales e interneuronas inhibitoras, mientras que las neuronas CeA son principalmente GABAérgicas, con el CeL proyectando al CeM (Janak & Tye, 2015). Fibras interconectadas de neuronas GABAérgicas, denominadas células intercaladas, también se encuentra comunicando al BLA y el CeA, proporcionando una importante fuente de inhibición (Ehrlich et al., 2009).

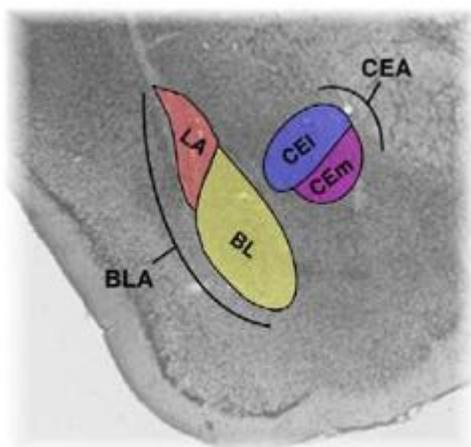


Figura 2. División anatómica de la amígdala en cerebro de roedor. BLA: complejo basolateral de la amígdala; LA, núcleo lateral; BL, núcleo basolateral; CeA, núcleo central de la amígdala; CEI, núcleo central (división lateral); CEM, núcleo central (división medial). Imagen tomada y modificada de Maren, (2005).

Una diversa gama de áreas corticales asociativas y polimodales se proyectan hacia la amígdala (Maroun, 2006; McCool, 2021; McDonald, 1998; McGinnis et al., 2020; Nicolas et al., 2021). Sin embargo, existe una clara segregación de estructuras diana en función de los núcleos de la amígdala que originan las proyecciones: las proyecciones corticales y estriadas de la amígdala se originan en el BLA, no en el CeA; dichas proyecciones conectan a la corteza prefrontal medial (mPFC), la ínsula, las cortezas rinales

y algunos campos del hipocampo (Krettek & Price, 1978; Pape & Pare, 2010; Rodríguez-Durán et al., 2017). Por el contrario, BLA tiene pocas o ninguna salida del tronco encefálico, mientras que CeA envía fuertes proyecciones a varias estructuras del tronco encefálico (Pape & Pare, 2010). La mayoría de las entradas a la amígdala son de vías excitatorias que usan glutamato como neurotransmisor, estas entradas forman conexiones sinápticas con las neuronas principales excitatorias, a su vez, estas transmiten a otras regiones en el SNC o subregiones de la amígdala (LeDoux, 2007). Los axones de las neuronas principales también dan lugar a conexiones locales con interneuronas inhibitorias, que luego proporcionan inhibición por retroalimentación a las neuronas principales (LeDoux, 2007).

De manera muy general, el flujo de información a través de la amígdala se da de la siguiente manera: la amígdala recibe información sobre el entorno externo desde el tálamo y las cortezas sensoriales, que se proyectan a la LA; a su vez, LA proyecta dentro de la BLA a la BA y BM, así como al CeA (Janak & Tye, 2015; Sah et al., 2003). La BLA está recíprocamente conectado con las regiones corticales, como la corteza prefrontal orbital (PFC) y el hipocampo (HPC), así como con las áreas de asociación sensorial (Chareyron et al., 2011; Rodríguez-Durán et al., 2017; Sah et al., 2003). Las salidas predominantemente unidireccionales del BLA incluyen el cuerpo estriado, especialmente el núcleo accumbens (NAc), y el núcleo del lecho de la estría terminalis (BNST) y el CeA (Chareyron et al., 2011; Janak & Tye, 2015). Las proyecciones que salen del complejo basolateral son neuronas de tipo piramidal y glutamatérgicas (Paré et al., 1995; Sah et al., 2003).

Adicionalmente, el flujo de información en los circuitos de la amígdala se modula por diversos neurotransmisores, entre ellos NE, DA, Ser y ACh, lo que define la interacción entre las neuronas excitatorias e inhibitorias (LeDoux, 2007).

Amígdala basolateral (BLA)

Al igual que en la corteza, BLA contiene dos clases de neuronas, el grupo dominante (80%) consta de células de proyección glutamatérgica de tipo piramidal, con árboles dendríticos multipolares cubiertos de espinas y axones que aportan múltiples colaterales a las células BLA vecinas, núcleos de la amígdala u otras estructuras del cerebro (Faber et al., 2001; Liu et al., 2021; McDonald et al., 2012; Sah et al., 2003). Aunque las neuronas de la BLA son en su mayoría de tipo piramidal, mantienen diferencias morfológicas con las neuronas piramidales de la corteza, por ejemplo, en la forma en que se distribuyen las dendritas (McDonald et al., 2012; Sah et al., 2003). En el BLA existen tres tipos de receptores ionotrópicos de glutamato: los receptores AMPA, NMDA y kainato, y un tipo de receptores metabotrópicos (Nikolenko et al., 2020). La segunda clase de células en la BLA consta de interneuronas gabaérgicas de circuito local con axones cortos y dendritas espinosas a escasamente espinosas (20% de las células), electrofisiológica y neuroquímicamente cuenta con diferentes subgrupos de células que llegan a expresar somatostatina, péptido intestinal vasoactivo o colecistoquinina, y colocalizan con proteínas fijadoras de calcio, como la parvalbúmina (PV) y la calbindina en una alta proporción de interneuronas. Sin embargo, se puede encontrar más de un marcador en una sola interneurona. (Kemppainen & Pitkanen, 2000; McCool, 2021; Sah et al., 2003). Los patrones de respuesta de las interneuronas de parvalbúmina y somatostatina sugiere una regulación de la excitabilidad de las neuronas de proyección y la salida de la BLA

(Gründemann & Lüthi, 2015). De acuerdo con las propiedades electrofisiológicas, las neuronas piramidales se diferencian de las interneuronas por la amplitud del potencial de acción, la frecuencia del potencial de acción y el potencial de hiperpolarización (Mahanty & Sah, 1998).

Dentro del BLA, hay proyecciones glutamatérgicas desde LA hacia los núcleos basales, particularmente hacia BM; las proyecciones de regreso de los núcleos basales hacia LA están confinadas al sector más ventral de LA (Paré et al., 1995). Así, la direccionalidad predominante de las conexiones internucleares es de dorsal a ventral con proyecciones no recíprocas con el CE (Pape & Pare, 2010). La amígdala también tiene proyecciones gabaérgica intra-amigdalinas, específicamente a la parte ventral y anterior del núcleo amigdalóideo basolateral (Liu et al., 2021).

Con relación a otras áreas del SNC, la BLA recibe proyecciones de las cortezas prefrontal, insular, auditiva, visual, perirrinal, hipocampo y la corteza entorrinal (McGinnis et al., 2020; Pitkänen et al., 2006). A su vez, envía proyecciones al núcleo accumbens, la corteza insular, la corteza prefrontal, incluidas las áreas prelímbica, límbica y cingulada anterior (Krettek & Price, 1978; Rodríguez-Durán et al., 2017).

Los cambios plásticos en la amígdala no solo regulados por las neuronas principales de tipo glutamatérgicas, sino que también de la actividad gabaérgica, la noradrenérgica y la dopaminérgica (Bissière et al., 2003; Perumal et al., 2021; Tully et al., 2007). Por ejemplo, la actividad de noradrenalina permite la inducción de LTP en la amígdala al afectar la neurotransmisión GABAérgica inhibitoria (Tully et al., 2007). Así mismo la activación de los receptores de dopamina D2 suprime la inhibición de retroalimentación y permite la inducción de LTP en las sinapsis aferentes excitatorias (Bissière et al., 2003).

Funciones de la amígdala

Existe un consenso general en la investigación de las bases neuronales del aprendizaje y la expresión del miedo, que indica que la amígdala es un detector rápido de situaciones y estímulos ambientales aversivos, lo que produce estados afectivos o conductuales para permitir respuestas adaptativas a amenazas potenciales (Ehrlich et al., 2009; Janak & Tye, 2015; LeDoux, 2000; Nicolas et al., 2021). Las neuronas LA desarrollan y mantienen respuestas neuronales excitatorias al inicio de una señal auditiva que se ha emparejado con un shock en el pie (Maren, 2005). Aunque el efecto contrario, es decir un efecto ansiolítico, también se ha observado tras la excitación selectiva de las proyecciones glutamatérgicas del BLA al CeA (Tye et al., 2011).

En este sentido, la amígdala recibe información sensorial primaria que le permite codificar y transmitir la valencia de los estímulos ambientales para promover comportamientos adaptativos. Se ha demostrado que distintos conjuntos celulares en el complejo BLA median las respuestas a los estímulos apetitivos y aversivos, estas subyacen al aprendizaje asociativo al asignar valencia a los estímulos sensoriales (Gore et al., 2015). En el complejo BLA, alrededor de una quinta parte de las neuronas rastrean la valencia (Namburi et al., 2016) y la evidencia muestra que estas neuronas codificantes de valencia positiva y negativa están entremezcladas (Beyeler et al., 2018; Smith & Torregrossa, 2021).

El BLA recibe información colinérgica del prosencéfalo basal (BF), información serotoninérgica del núcleo del rafe dorsal (DRN) e información dopaminérgica del área tegmental ventral (VTA). Estas proyecciones responden a estímulos apetitivos y aversivos, lo que les permite modular la codificación de valencia. Dentro de la BLA, los conjuntos de neuronas codifican valencia positiva vs negativa y se proyectan a diversas áreas, por

ejemplo, las proyecciones al núcleo accumbens (NAc) codifican valencia positiva, las proyecciones a porciones de la amígdala central (CeA) codifican valencia negativa y las proyecciones del BLA al hipocampo ventral (vHPC) responden a señales relacionadas con la valencia (Smith & Torregrossa, 2021). Particularmente, la liberación de glutamato y norepinefrina en la BLA se ha asociado a la consolidación de largo plazo en protocolos de condicionamiento de aversión al sabor (Guzmán-Ramos et al., 2012).

Claramente, aprender sobre los estímulos ambientales que predicen la aparición de recompensas es adaptativo, al igual que aprender sobre posibles resultados aversivos. La amígdala recibe información directa del tálamo sensorial y las regiones corticales para integrar la información sensorial del entorno con resultados aversivos y/o apetitivos, por lo tanto, se puedan llevar a cabo conductas motivadas impulsadas por la valencia del reforzador y/o la valencia de los estímulos emparejados con ese reforzador (Barberini et al., 2012; Smith & Torregrossa, 2021). En este sentido, el aprendizaje relacionado con señales está involucrada en la asignación de valencia a los estímulos ambientales (Smith & Torregrossa, 2021). Las neuronas de la amígdala codifican simultáneamente múltiples dimensiones de dicho aprendizaje, como las propiedades sensoriales de las señales condicionadas, los comportamientos que provocan y su valencia (Kyriazi et al., 2018). Los estudios de lesiones respaldan estos hallazgos, ya que lesiones de la amígdala afectan la capacidad de responder a las señales frente al cambio del valor recompensante (Murray, 2007). Particularmente, el BLA y el CeA parecen hacer distintas contribuciones a la representación del valor; se propone que el BLA representa el valor del resultado junto con características sensoriales específicas, lo que permite la discriminación entre múltiples

resultados de una valencia similar, mientras que el CeA mantiene una representación más general de la importancia motivacional de un resultado (Balleine & Killcross, 2006).

Bajo el contexto del aprendizaje relacionado a señales, la BLA ha demostrado ser un área importante que media los procesos de aprendizaje que permiten que los estímulos pareados con sustancias de abuso adquieran valor de incentivo y control sobre conductas de búsqueda (Smith & Torregrossa, 2021). Por ejemplo, la inhibición de la función BLA a través de lesiones o la inactivación reversible perjudica la adquisición de la autoadministración de cocaína a través de una tarea instrumental y, además, tras la extinción del aprendizaje, las manipulaciones en el BLA atenúan la reincorporación de la respuesta de autoadministración tras la presencia de señales asociadas a cocina (Pushparaj et al., 2015). Estos estudios destacan que, si bien el BLA no es responsable de los efectos reforzantes primarios de la droga, es esencial para que una señal provoque la representación de la valencia reforzante de las sustancias de abuso (Pushparaj et al., 2015; Smith & Torregrossa, 2021).

ANTECEDENTES

Conexión corteza insular a la amígdala basolateral

Clásicamente se ha considerado que el flujo de información en el SNC está mediado por vías ascendentes, es decir, de áreas subcorticales a áreas corticales. Un ejemplo de ellos es la vía BLA-CI, a este flujo de información se le denomina bottom-up (o ascendente) y establece que las propiedades físicas de los estímulos impulsan el procesamiento de información en las diversas áreas del SNC (Riener, 2019). Sin embargo, ahora se sabe que existe un flujo de información a la inversa, conocido como Top-down (o descendente). El procesamiento descendente está impulsado por las experiencias previas, es decir la

memoria y las expectativas del individuo. El cerebro jerarquiza la información saliente según las propiedades físicas de los estímulos y las compara con las experiencias del organismo, facilitando la percepción de los estímulos, sin alterar la percepción sensorial inicial (Makino, 2019; Osorio-Gómez et al., 2022). En este sentido, se ha reportado una importante conexión de la CI a la BLA (Gabbott et al., 2005; Kayyal et al., 2019; Lavi et al., 2018; McGinnis et al., 2020; Nicolas et al., 2021; Wang et al., 2018).

Las proyecciones de la CI a la BLA emergen principalmente de la CI anterior (Wang et al., 2018), particularmente de las capas V y VI de la CI agranular y disgranular (Gabbott et al., 2005; Kayyal et al., 2019). De acuerdo con Kayyal et al., (2019) 5% de las neuronas en la CI anterior proyecta a la BLA, de este 5%, el 62% de las neuronas proyectan desde las capas V y VI (Kayyal et al., 2019). Estas proyecciones son de tipo monosinápticas y glutamatérgicas (McGinnis et al., 2020).

Funciones de la vía CI-BLA

Recientemente, se ha descrito la importancia de la vía CI-BLA en una variedad de respuestas conductuales. Gran parte de la literatura que describe las contribuciones conductuales de los circuitos ínsula-basolateral se ha centrado en roles bien establecidos para estas regiones, típicamente comportamientos de evitación relacionados con el gusto (Kayyal et al., 2019; Lavi et al., 2018). Se ha reportado que la inhibición, de manera intraperitoneales o local, de la proyección CI agranular-BLA durante la adquisición y recuperación de un CAS resultó en una disminución significativa en la prueba de memoria, sin afectar las respuestas de miedo (Kayyal et al., 2019). Lo que coincide con los hallazgos de Lavi et al, (2018) en los que reporta que las neuronas CI que proyectan a la BLA codifican propiedades condicionadas de los sabores, independientemente de su identidad

química. Se ha propuesto que, durante la adquisición de un CAS, la activación de la proyección CI agranular-BLA facilita las asociaciones estímulo incondicionado con uno condicionado, da forma a la codificación de valencia de las experiencias gustativas aprendidas y se reactiva para permitir la recuperación de asociaciones aprendidas pasadas (Kayyal et al., 2019). Por otra parte, se ha reportado que la estimulación optogenética de la actividad glutamatérgica de la CI anterior produce respuestas gustativas apetitivas (Wang et al., 2018), pues la asociación entre la estimulación de agua o un estímulo gustativo aversivo como la quinina incrementa el consumo comparado con los grupos controles. Los autores consideran que el incremento en las respuestas apetitivas apoya la existencia de distintos sustratos neuronales para la discriminación de la identidad gustativa y la asignación de valencia asociados a esta vía (Wang et al., 2018).

Así mismo, se tiene información sobre el papel de la vía insula-basolateral en el uso de sustancias de abuso. McGinnis et. al (2020) utilizaron la estimulación óptica de las proyecciones de la CI agranular anterior a la amígdala basolateral y mostraron que la exposición crónica al etanol mejora la función postsináptica en estas sinapsis. En este trabajo se midieron las corrientes excitatorias post-sinápticas evocadas por fotoestimulación de las terminales del BLA provenientes de la CI agranular y se encontró que la presencia de DNQX (antagonistas de receptores AMPA) erradicó la presencia de las corrientes excitatorias; así mismo, en animales expuesto a etanol de manera crónica reportaron un aumento en la amplitud de las corrientes excitatorias post-sinápticas en las terminales del BLA comparados con el grupo control, estos cambios fue bloqueada por la administración de ketamina in vivo, lo que sugiere que esta vía es capaz de sufrir cambios en la plasticidad sináptica. Agoitia et al. (2024) demostraron que la actividad de la vía CIa-BLA tiene un

efecto en las conductas adictivas, en este trabajo, los animales pasaron por un protocolo tradicional de condicionamiento de preferencia al lugar inducido por la inyección intraperitoneal de anfetamina, después se hicieron pruebas de extinción 1 o 14 días después de la última inyección en las que se fotoinhibía la vía y lo que observaron fue que la inhibición de la vía CIa-BLA solo afectó el nivel de ansiedad por abstinencia en la evaluación de 14 días, lo que implica que la vía modula la magnitud de la búsqueda condicionada de drogas después de la abstinencia (Agoitia et al., 2024). Además, es sabido que existen una conexión recíproca de la vía BLA-CI que es capaz de tener modificaciones plásticas en esta región cortical (Rodríguez-Durán et al., 2017). Lo anterior sugiere la posibilidad de una comunicación recíproca entre la CIa y la BLA (Wang et al 2018, Kayyal et al., 2019) que estaría involucrada en el mantenimiento de memorias, tanto valencia positiva (Agoitia et al., 2024; Wang et al., 2018) como valencia de negativa (Kayyal et al., 2019; Lavi et al., 2018). Por lo anterior, el presente proyecto trató de identificar los posibles cambios en la plasticidad sináptica del circuito descendente de la CI anterior a la BLA subyacentes al mantenimiento de la memoria.

HIPÓTESIS

La vía descendente glutamatérgica de la CIa-BLA modula la plasticidad sináptica expresados como potenciación y depresión a largo plazo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Identificar y caracterizar los cambios en la plasticidad sináptica del circuito neuronal descendente de la CI a la BLA

Objetivos Particulares

1. Caracterizar la señal electrofisiológica de la vía CIa-BLA
2. Identificar si es posible generar cambios en la plasticidad sináptica de la vía CIa-BLA de manera eléctrica.
3. Identificar los patrones de estimulación optogenéticos capaces de generar cambios plásticos en la vía CIa-BLA
4. Identificar el o los neurotransmisores asociados a los cambios plásticos en la vía CIa-BLA.

MÉTODO

Animales

Se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6, 12-16 meses para los registros electrofisiológicos (**Figura 3**). Todos los ratones usados en los experimentos fueron tratados con base en lo descrito en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) sobre el uso y cuidado de animales de laboratorio. Los ratones fueron almacenados del nacimiento hasta el momento de los registros electrofisiológicos en cajas de entre 4 a 5 animales. En el caso de los animales que fueron sometidos a cirugía estereotáxica para la infección de adenovirus para la inducción de LTP optogenética, el almacenamiento tras la cirugía fue de 2 a 3 animales por caja. Los animales se mantenían en un ambiente de 22 a 24°C con un ciclo 12/12 de luz-oscuridad, con agua y alimento ad libitum.

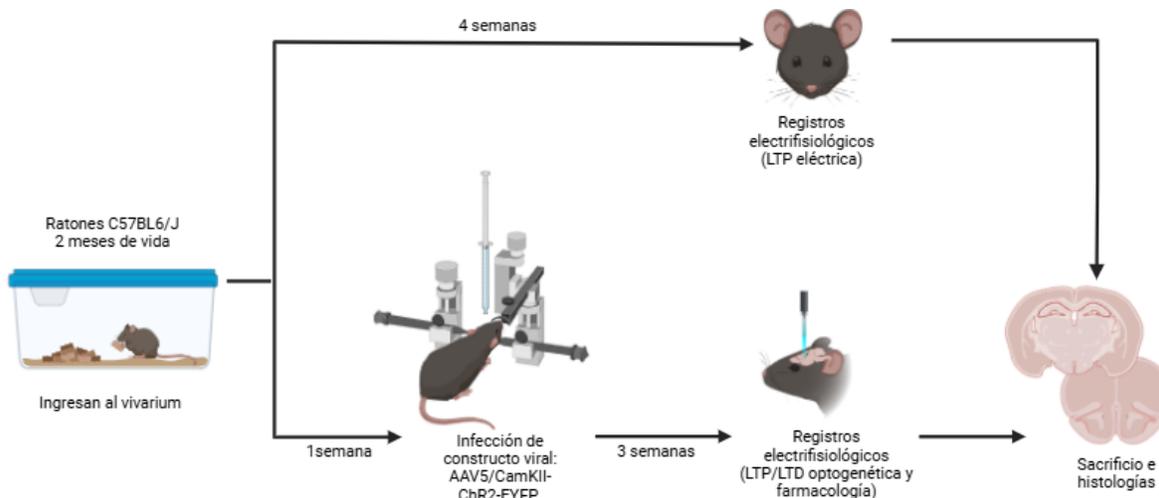


Figura 3. Cronología de la vida experimental de los ratones utilizados en este proyecto.

LTP eléctrica

Con el fin de inducir LTP de manera eléctrica en la vía CI-BLA, los animales fueron sometidos a cirugía estereotáxica. Para ello, los ratones fueron anestesiados con pentobarbital (47.5mg/kg i.p.), posteriormente se administraron inyecciones suplementarias del anestésico a intervalos de una hora con el fin de mantener los niveles quirúrgicos de anestesia. La temperatura del cuerpo fue mantenida a 35°C con un cojín térmico.

Se implantaron electrodos hechos de alambre de acero inoxidable (127 µm de diámetro recubierto de teflón, Biomedical Instruments, Alemania)- Se administró una estimulación de corriente constante (pulsos monofásicos de 50-70 µA, duración de 0.25 ms) a la CI agranular anterior (AP +1.9mm, ML ±3.0mm, DV -2.4 (Paxinos & Franklin, 2004)). Las respuestas evocadas por las CIa se registraron unilateralmente utilizando un electrodo monopolar de acero inoxidable colocado en la BLA (AP -1.80 mm, ML ±3.4 mm, DV -5.0mm (Paxinos & Franklin, 2004)). Se analizó la pendiente de los potenciales postsinápticos excitatorios de campo (fEPSPs, por sus siglas en inglés) para medir la actividad sináptica de la vía CIa-BLA. Las respuestas evocadas fueron suministradas por un

estimulador Grass S48 y aplicadas al electrodo de estimulación a través de una unidad de asilamiento PSIU6, así mismo fueron amplificadas utilizando un amplificador Grass P5. Posteriormente la señal de los fEPSP fue digitalizada con el software Datawave (SciWorks, EE. UU.). Se evaluaron diferentes intensidades de estimulación para identificar la pendiente máxima de fEPSP. Los potenciales basales evocados al 50% de la pendiente máxima de fEPSP se registraron durante 10 minutos para garantizar una línea base representativa. Posterior a la línea base, se aplicaron 10 trenes de estimulación con duración de un segundo cada uno, a una frecuencia de 100 Hz, con un intervalo intertrén de 20 segundos, con el fin de inducir la LTP, dicho protocolo se utilizó pues se ha comprobado que en la vía ascendente BLA-CI 100hz produce una LTP (Rodríguez-Durán et al., 2017). Tras la estimulación de alta frecuencia, las respuestas evocadas fueron registradas durante una hora más, con el propósito de observar los cambios en la pendiente de fEPSPs.

Registros electrofisiológicos con estimulación optogenética

Aunque la estimulación electrofisiológica se puede realizar con alta precisión temporal, falla en la resolución celular y en la inhibición neuronal verdaderamente precisa no puede lograrse mediante enfoques farmacológicos. La optogenética ofrece la ventaja de combinar la genética y la óptica, lo que genera una manipulación dirigida de células seleccionadas en redes neuronales incluso en animales que se mueven libremente (Masseck, 2018).

Con el fin de inducir cambios plásticos de manera optogenética se realizó una cirugía estereotáxica en ratones en la que se infectó a los animales con un constructo adenoviral que expresó el canal de rodopsina-2 (ChR2), activado con luz (λ 473 nm) y la proteína reportera (eYFP), bajo el promotor de CaMKII (rAAV5/CamKII-hChR2(H134R)-

EYFP-WPRE-PA (ACCY)), esto hacía que la estimulación optogenética estuviera dirigida a neuronas glutamatérgicas. Se indujo anestesia con isoflurano 2-3 % y mantenimiento de esta al 0.5-1%, con flujo constante de oxígeno. Durante la cirugía se aplicaron lagrimas artificiales para evitar daño a los ojos. Se removió una pequeña porción de piel de la cabeza del ratón para tener acceso al cráneo y se alinearon en bregma al mismo plano horizontal que lambda. Los animales fueron infectados en la CI agranular anterior en las coordenadas AP: +1.9 mm, ML: ± 3.0 mm, DV: -2.0 mm con referencia en el parénquima, a través de la administración unilateral de 0.5 μL con el virus rAAV5/CamKII-hChR2(H134R)-EYFP-WPRE-PA (ACCY) con 6.2×10^{12} moléculas de virus/ml. La administración fue realizada manteniendo en la CIa un capilar que permite la difusión del virus por 5 minutos. Pasado este tiempo, se suturó a los animales y tras 21-28 días de recuperación y periodo para la expresión del virus, se realizaron los registros para la inducción de plasticidad optogenética.

Para los registros se implantaron electrodos hechos de alambre de acero inoxidable (127 μm de diámetro recubierto de teflón, Biomedical Instruments, Alemania). Se administró una estimulación de corriente constante (pulsos monofásicos de 50-70 μA , duración de 0.25 ms) a la CI agranular anterior (AP +1.9mm, ML ± 3.0 mm, DV -2.4 (Paxinos & Franklin, 2004)). Las respuestas evocadas por las CIa se registraron unilateralmente con un optrodo, que consistía en un electrodo monopolar de acero de 127 micrómetros de diámetro y una fibra óptica (apertura numérica 0.22, 200 μm de diámetro; Doric Lenses) en la BLA (AP -1.80 mm, ML ± 3.4 mm, DV -5.0mm (Paxinos & Franklin, 2004)). Se analizó la pendiente de los fEPSPs para medir la actividad sináptica de la vía CIa-BLA. Las respuestas evocadas fueron suministradas por un estimulador Grass S48 y aplicadas al electrodo de estimulación a través de una unidad de aislamiento PSIU6, así

mismo fueron amplificadas utilizando un amplificador Grass P5. Posteriormente la señal de los fEPSP fue digitalizada con el software Datawave (SciWorks, EE. UU.). Los fEPSP se registraron durante 10 minutos para garantizar una línea base representativa. Posterior a la línea base, se realizaron trenes de fotoestimulación de la siguiente manera: se administró luz durante 5s (20 Hz, pulsos de 20 ms, 5–10 mW por mm²) con un intervalo OFF de 3s, esto para evitar la sobreestimulación o la fototoxicidad (Wang et al., 2018). Adicionalmente, para explorar los protocolos de estimulación optogénéticos capaces de generar cambios en la plasticidad retomamos las frecuencias utilizadas por Nabavi et al., (2014) de 10 Hz y 1 Hz adaptadas al protocolo de Wang et. al (2018). Tras la estimulación optogénica, las respuestas evocadas fueron registradas durante una hora más, con el propósito de observar los cambios en la pendiente de los fEPSPs.

Farmacología

Con el fin de investigar los receptores responsables de los cambios en la plasticidad sináptica observados tras la estimulación optogénica se realizaron los siguientes experimentos. Después del registro de línea base, se administraron antagonistas de los receptores glutamatérgicos. Para administrar los fármacos conectamos un electrodo de infusión (microtubos de acero inoxidable recubiertos de epoxi, 0.07” ID) a una microjeringa Hamilton de 10 µL (The Hamilton Company Quality System, EE. UU.) a través de un tubo de polietileno, que era impulsada por una bomba de microinfusión (Cole Parmer Instrumentos). Con el propósito de inhibir los receptores NMDA se infundió en la BLA DL-2-amino-5fosfonopentanoico (10 mg ml⁻¹, DL-AP5, #0105 Tocris Bioscience), un antagonista de dichos receptores en un volumen de 0.3µl a 0.25µl/ml; en un grupo experimental diferente se infundió CNQX también en BLA (1 mg ml⁻¹, hidrato de sal

disódica CNQX, #C239 Sigma-Aldrich), un antagonista de los receptores AMPA en un volumen de 0.3µl a 0.25µl/m o como grupo control, se infundió solución salina isotónica (0.9%) en un volumen de 0.3µl a 0.25µl/ml.

Curvas entrada-salida (I/O)

Con el propósito de determinar la eficiencia sináptica para un rango determinado de intensidades de estimulación, se midió la relación entre la entrada de corriente y la salida de voltaje (I/O) en la vía CIa-BLA de 0µA a 100µA

Inmunofluorescencia

Con el fin de obtener observar la correcta infección de los constructos virales se realizaron inmunohistoquímicas a cortes de cerebro de los animales experimentales. Tras los registros electrofisiológicos, a los animales se les administró una dosis letal de pentobarbital sódico y solución salina 1:1, inmediatamente después se realizó la fijación del cerebro mediante perfusión intracardiaca con 0.9 % de NaCl seguido de solución de paraformaldehído 4% pH 7.4. Los cerebros se removieron y se colocaron en solución de paraformaldehído 4% pH 7.4 por 12 horas aproximadamente, posteriormente se colocaron en solución de sacarosa 30% durante 48 horas. Los cerebros fueron colocados en Tissue-tek para realizar cortes coronarios con el criostato (Leica Biosystem, Richmond, USA) en cortes de 40 µm colocados en flotación en buffer de Trizma base-salina (TBS) 0.1 M pH 7.4.

Para determinar la inmunofluorescencia de la proteína reportera eYFP del adenovirus infectado en los somas de la CIa y las respectivas terminales en la BLA, se seleccionó cortes correspondientes las áreas mencionadas y se realizó el siguiente protocolo: 2 lavados con TBS 1x pH 7.4 durante 5 minutos, seguido se agregó DAPI al 0.3

μM por 1min, finalmente 2 lavados TBS 1x pH 7.4 por 10 minutos. Finalmente se realizó montaje en laminillas VWR en medio DAKO.

Tinción de Nissl

Con el fin de determinar la localización en donde los electrodos cayeron y se realizaron los registros, se realizó la tinción de Nissl.

El protocolo de tinción consistió en lo siguiente: se recuperaron los cortes deseados de la CIA y la BLA, se montaron en laminillas gelatinizadas y se dejaron secar por 24-48 horas. Tras este periodo, las laminillas se sometieron a trenes de hidratación y deshidratación: 2 minutos de agua destilada, 2 minutos de violeta de cresilo al 1%, un lavado rápido de etanol al 96%, 3 lavados de con alcohol 96% por 1 minuto cada uno, 1 minuto de xileno y 2 minutos de xilol. Finalmente se agregó medio de montaje Permount y se cubrió la laminilla con un cubreobjetos.

Análisis estadístico

Los datos experimentales se graficaron y analizaron con el software GraphPad Prism (versión 7.00, EE. UU.). Se realizó un ANOVA de medidas repetidas, seguido de la prueba post hoc de Fisher para comparar las diferencias entre los grupos, o en su caso una prueba t no pareada. Se comparó los 10 minutos del registro de la línea base con los últimos 10 minutos de la pendiente fEPSP posterior la estimulación de alta frecuencia o la optogenética. Todos los gráficos se mostraron la media \pm SEM con una significancia estadística de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Caracterización electrofisiológica de la vía CIa-BLA

Con el fin de caracterizar la señal electrofisiológica de la vía CIa-BLA se realizaron registros de las respuestas evocadas en el BLA de manera unilateral, las respuestas fueron evocadas unilateralmente a través de estimulación directa en la CI anterior en ratones de la cepa C57BL6/J. La estimulación se realizó con pulsos monofásicos de 50-70 μ A de 0.25 ms de duración y se registraron los fEPSPs. En la **figura 4A-B** se muestra imágenes representativas de la localización de los electrodos de estimulación y de registro en la CI anterior y la BLA, respectivamente. Una vez comprobada la correcta localización de los electrodos, se muestra un trazo representativo de la morfología de los componentes encontrados durante el registro electrofisiológico de la señal en la **fig. 4C**, en él, se encontró además del artefacto de estimulación, componentes monosinápticos y no monosinápticos. La señal monosináptica mostraba un inicio a los 3ms, una cresta en los 9ms y un descenso que continua hasta los 17ms. A una estimulación de 50-70 μ A, el promedio de la amplitud de la señal es de 278.07 μ V (\pm 35.2 SEM), y una pendiente de 96.95 μ V/ms (\pm 18.51 SEM) (n=22). Finalmente, en **fig. 4D** se realizó un registro input-output de la señal de la señal CIa-BLA con el fin de mostrar la excitabilidad de la señal.

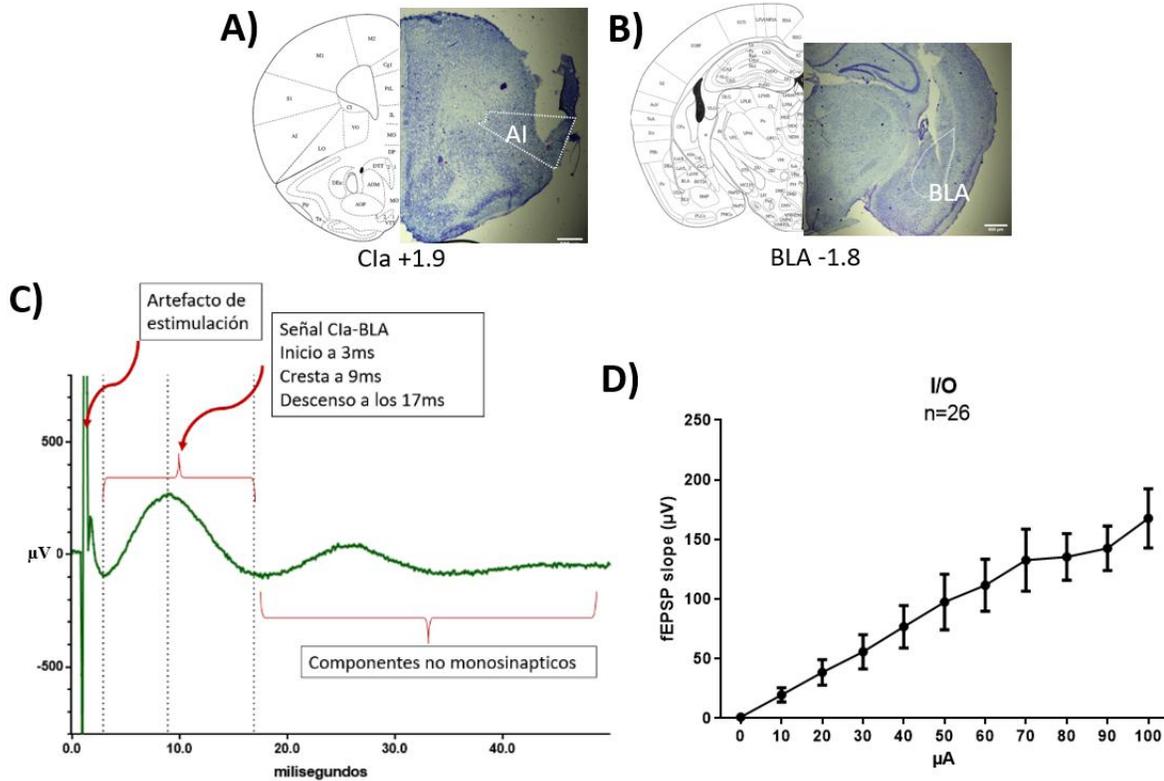


Figura 4. Morfología de la señal electrofisiológica de la vía CI anterior-BLA. A) Imagen representativas de la localización del electrodo de estimulación en la CI anterior. B) Imagen representativas de la localización del electrodo de registro en la BLA. En ambos casos se presenta su contraparte a la altura de bregma correspondiente, con referencia a “The mouse brain in stereotaxic coordinates” (Paxinos & Franklin, 2004). C) Se presenta un trazo representativo de la morfología de componentes encontrados durante el registro electrofisiológico de la señal D) Registro input-output de la señal de la señal CI anterior-BLA. Se presenta el registro de la pendiente del potencial postsináptico excitatorio en condiciones basales

Estimulación eléctrica de alta frecuencia produce LTP en la vía CIa-BLA

Con el fin de establecer si la vía CIa-BLA presenta LTP, se realizaron registros de las respuestas en el BLA evocadas unilateralmente a través de estimulación directa en la CIa y se dio una HFS de 100Hz. En la **figura 5A** se observa una representación gráfica de la posición de los electrodos para el registro electrofisiológico. En la **fig. 5B** se muestra el gráfico de las respuestas evocadas de la BLA proveniente de la CIa, la administración de trenes HFS en la CIa indujo una LTP, pues la pendiente de los fEPSPs mostró un aumento significativo entre la línea base y los últimos 10 minutos post-trenes (%fEPSPs línea base

100.19 ± 1.2; %fEPSPs post-trenes 124.02 ± 1.19) (media ± S.E.M.) (t=29.10, df=58, p<0.05). En la **fig. 5C** se muestra una gráfica de barras que señala las diferencias significativas entre la línea base y el registro de los últimos 10 minutos post-trenes.

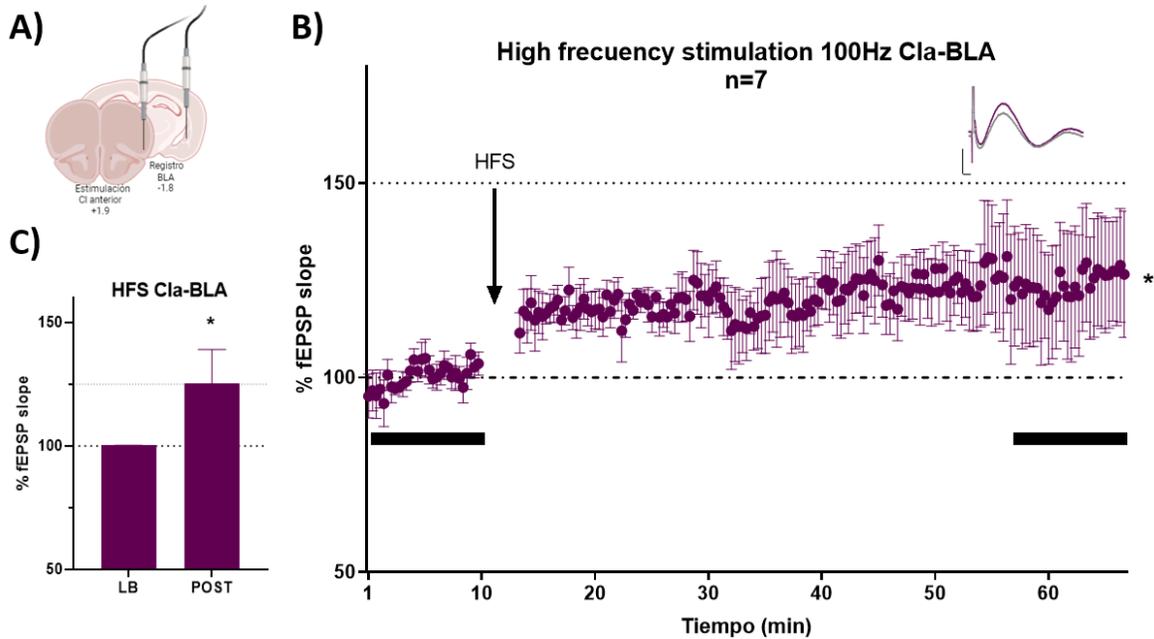


Figura 5. Potenciación a largo plazo de la vía CI anterior-BLA. A) Representación gráfica la posición de los electrodos para el registro electrofisiológico. B) Gráfico que muestra los cambios en la fEPSPs en la vía CIa-BLA, tras una estimulación de alta frecuencia (HSF) se indujo una LTP en la vía. C) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la media de la línea base y la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes. Los recuadros negros en la figura B denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura D. Todos los datos se muestran como media ± SEM. *Diferencia significativa contra línea base.

Plasticidad sináptica de la vía CIa-BLA inducida por optogenética

Estimulación optogenética de 20 HZ produce LTP en la vía CIa-BLA

Una vez demostrado que la vía CIa-BLA presenta una modulación plástica, decidimos explorar si era posible inducir cambios en la plasticidad sináptica de manera optogenética. Para esto, se infectó a los animales con el constructo adenoviral (rAAV5/CamKII-hChR2(H134R)-EYFP-WPRE-PA (ACCY). El constructo viral nos permitió marcar y estimular de manera exclusiva las neuronas de tipo glutamatérgicas.

Primero, mostramos en la **figura 6** fotos representativas de cortes coronales del cerebro de animales que fueron infectados. En la **figura 6A** se observa la expresión de la proteína reportera eYFP en los somas en la CIa (sitio de la infección) y en las terminales glutamatérgicas de la BLA (**fig. 6B**), en ambos casos existe una co-localización con el marcador de núcleos/somas celulares DAPI. Esto comprueba la conectividad glutamatérgica en la vía CIa-BLA y nos permitió comprobar la correcta infusión del constructo viral.

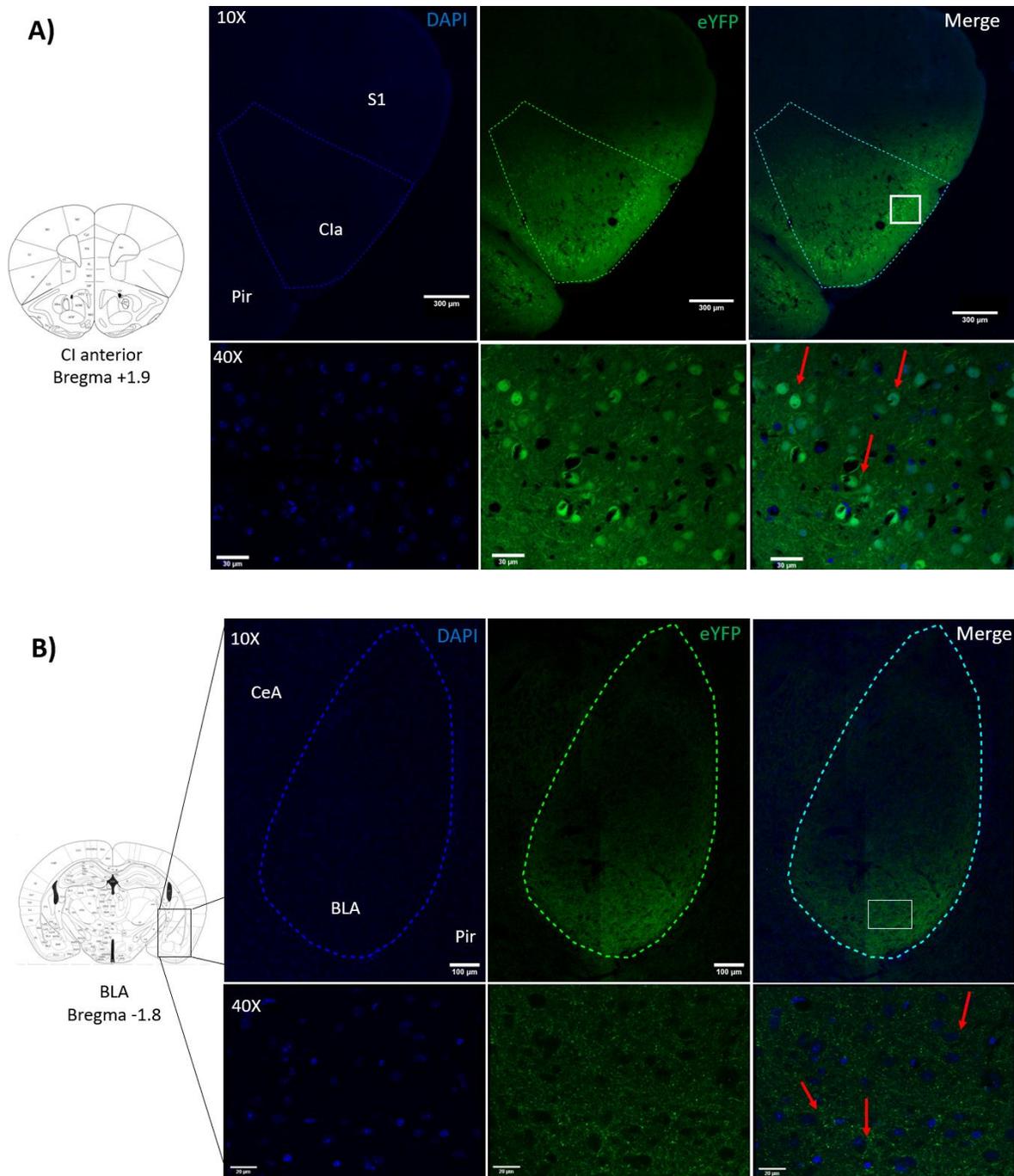


Figura 6. Diagrama de la infección en la CI anterior y difusión del virus a la BLA. A) Imágenes representativas de la infección en la CI anterior, en azul observamos el marcador de núcleos DAPI y en verde el marcaje de la proteína eYFP, la proteína reportera fluorescente del constructo viral. El último recuadro muestra el merge de DAPI y eYFP. B) Imágenes representativas de la difusión del virus a las terminales en BLA provenientes de la CI anterior.

Una vez comprobada la conectividad de tipo glutamatérgica que existe en la vía C1a-BLA, analizamos diferentes frecuencias de estimulación y sus efectos en la fuerza sináptica de la vía. Nuestro primer resultado indica que una estimulación de 20 Hz en la vía C1a-BLA induce una LTP. En la **figura 7A** se muestra un gráfico representativo de la estrategia experimental, en la que se infectó en la C1a el constructo viral o en el grupo control, un constructo que contaba únicamente con la proteína reporte eYFP bajo el promotor CaMKII (a partir de ahora, nos referiremos a ellos como grupo ChR2 o grupo eYFP). Después de 21-28 días se realizaron los registros electrofisiológicos, en donde en la C1a se colocó un electrodo de estimulación, mientras que en la BLA un optrodo que consistía en una fibra óptica que permitía fotoestimar la terminales de la BLA provenientes de la C1a y un electrodo que registraba las respuestas evocadas, esto con el fin de inducir una LTP. En la **fig. 7B** se muestra el gráfico de las respuestas evocadas de la BLA proveniente de la C1a y lo que observamos es que la estimulación de terminales glutamatérgica en la BLA provenientes de la C1a indujo una LTP, pues la pendiente de los fEPSPs mostró un aumento significativo comparado con la línea base y con su grupo control. Se realizó un ANOVA de medidas repetidas que mostró un efecto principal por la estimulación $F(3, 28)=18.19$ $P<0.05$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas en la pendiente de los fEPSP entre la línea base y la pendiente post-trenes en el grupo ChR2 ($P<0.05$), de igual manera entre la pendiente de los fEPSP post-trenes en los grupos ChR2 y eYFP ($P<0.05$). Finalmente, en la **Fig. 7C** se muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo ChR2 (%fEPSPs LB 101.28 ± 0.7 ; %fEPSPs post-trenes 163.84 ± 0.92) y el grupo eYFP (%fEPSPs LB 99.92 ± 1.04 ; %fEPSPs post-trenes 96.94 ± 1.04), contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes.

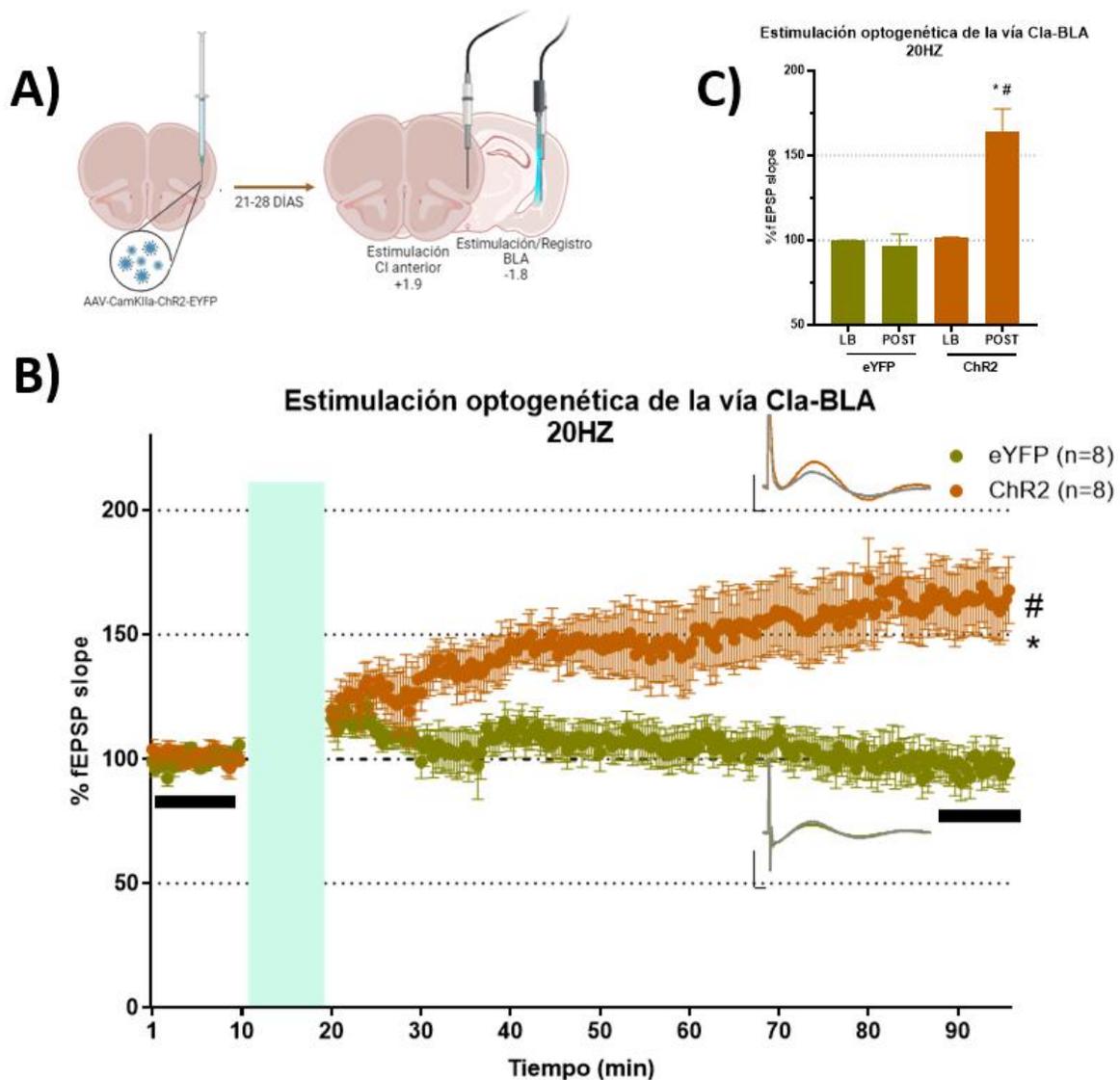


Figura 7. Potenciación a largo plazo de la vía CI anterior-BLA inducida opto genéticamente. A) Representación gráfica la posición de electrodos y optrodos para el registro electrofisiológico. B) Gráfico que representa los cambios en la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogenética de 20Hz en la vía CIa-BLA. Se muestra que la estimulación de 20Hz produce una LTP pues, se observa un aumento significativo de la pendiente de los fEPSP tras la estimulación. Existen también diferencias significativas con el grupo control C) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base y los últimos 10 minutos del registro post-trenes en los grupos ChR2 y eYFP. Los recuadros negros en la figura B denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura C. Todos los datos se muestran como media \pm SEM. *Diferencia significativa contra línea base, #Diferencia significativa entre grupos.

Estimulación optogenética de 1 Hz no produce cambios en la plasticidad sináptica

Reportes de la actividad de la amígdala han señalado que una estimulación de 1Hz en LA produce una LTD (Nabavi et al., 2014), por esto se indagó el efecto de una

fotoestimulación de 1Hz en la vía C1a-B1a. Para esto, se repitió la estrategia anterior, pero con una estimulación de 1Hz. En la **figura 8A** se muestra una representación gráfica de la posición del electrodo y el optrodo. En **fig. 8B** muestra el gráfico de las respuestas evocadas de la B1A proveniente de la C1a y lo que observamos es que la estimulación de 1Hz de las terminales glutamatérgica en la B1A provenientes de la C1a no modificó la pendiente de los fEPSPs entre la línea base y el registro post-trenes ($t=0.03$, $df=58$, $p=0.97$). En **fig. 8C** se observan la muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo ChR2 1Hz contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes (%fEPSPs LB 100.5 ± 1.41 ; %fEPSPs post-trenes 100.09 ± 1.75).

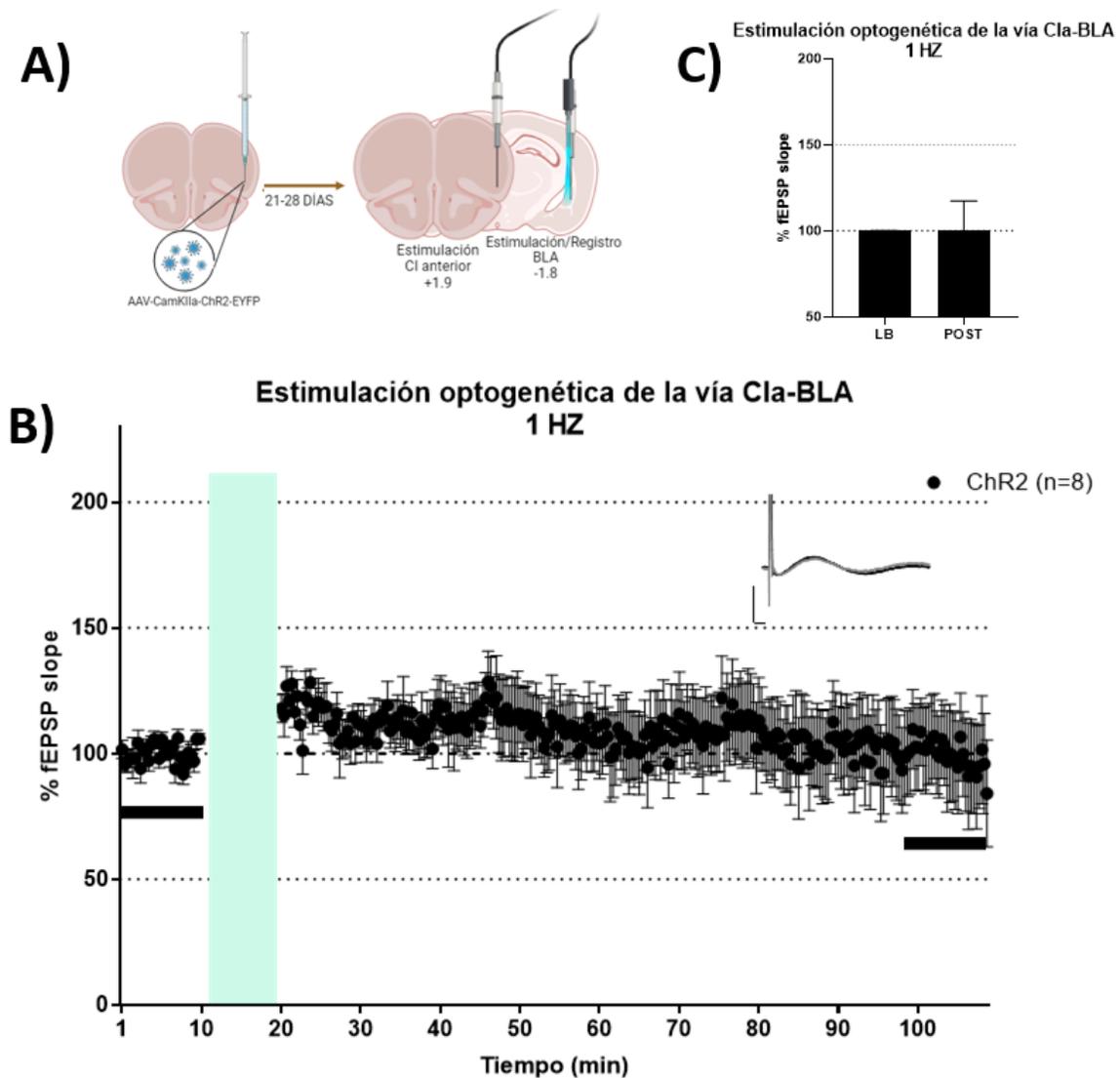


Figura 8. La estimulación optogenética de 1 Hz no produce cambios en la plasticidad sináptica en la vía ClA-BLA. A) Representación gráfica la posición de electrodos y optrodos para el registro electrofisiológico. B) Gráfico que representa la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogenética de 1Hz en la vía ClA-BLA y no se encontraron diferencias significativas entre las medias de la línea base y el registro post-trenes. C) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base y los últimos 10 minutos del registro post-trenes en el grupo ChR2. Los recuadros negros en la figura B denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura C. Todos los datos se muestran como media \pm SEM. *Diferencia significativa contra línea base, #Diferencia significativa entre grupos.

Estimulación optogenética de 10 Hz produce LTD en la vía ClA-BLA

Finalmente, evaluamos si la estimulación optogenética a 10Hz producía cambios en la fuerza sináptica de la vía ClA-BLA (**figura 9**). Se volvió a utilizar la misma estrategia

mencionada anteriormente y se encontró que la estimulación de las terminales en BLA provenientes de la CIa a 10Hz se produce una LTD (**fig. 9B**) demostrada por una disminución de la pendiente de los fEPSPs comparada con la línea base y su grupo control. El ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto principal por la estimulación $F(3, 24)=19.86$ $P < 0.0001$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas entre la pendiente de los fEPSPs de la línea base y los post-trenes en el grupo ChR2 ($P<0.005$), y la pendiente de los fEPSPs post-trenes en los grupos ChR2 y eYFP ($P<0.05$). En la **Fig. 9C** se muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo ChR2 (%fEPSPs LB 99.98 ± 0.94 ; %fEPSPs post-trenes 62.33 ± 1.34) y el grupo eYFP (%fEPSPs LB 99.79 ± 1.92 ; %fEPSPs post-trenes 96.40 ± 1.2), contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes. Finalmente, en la **Figura 10** se muestra un resumen de los resultados de las diferentes frecuencias de estimulación en la vía CIa-BLA.

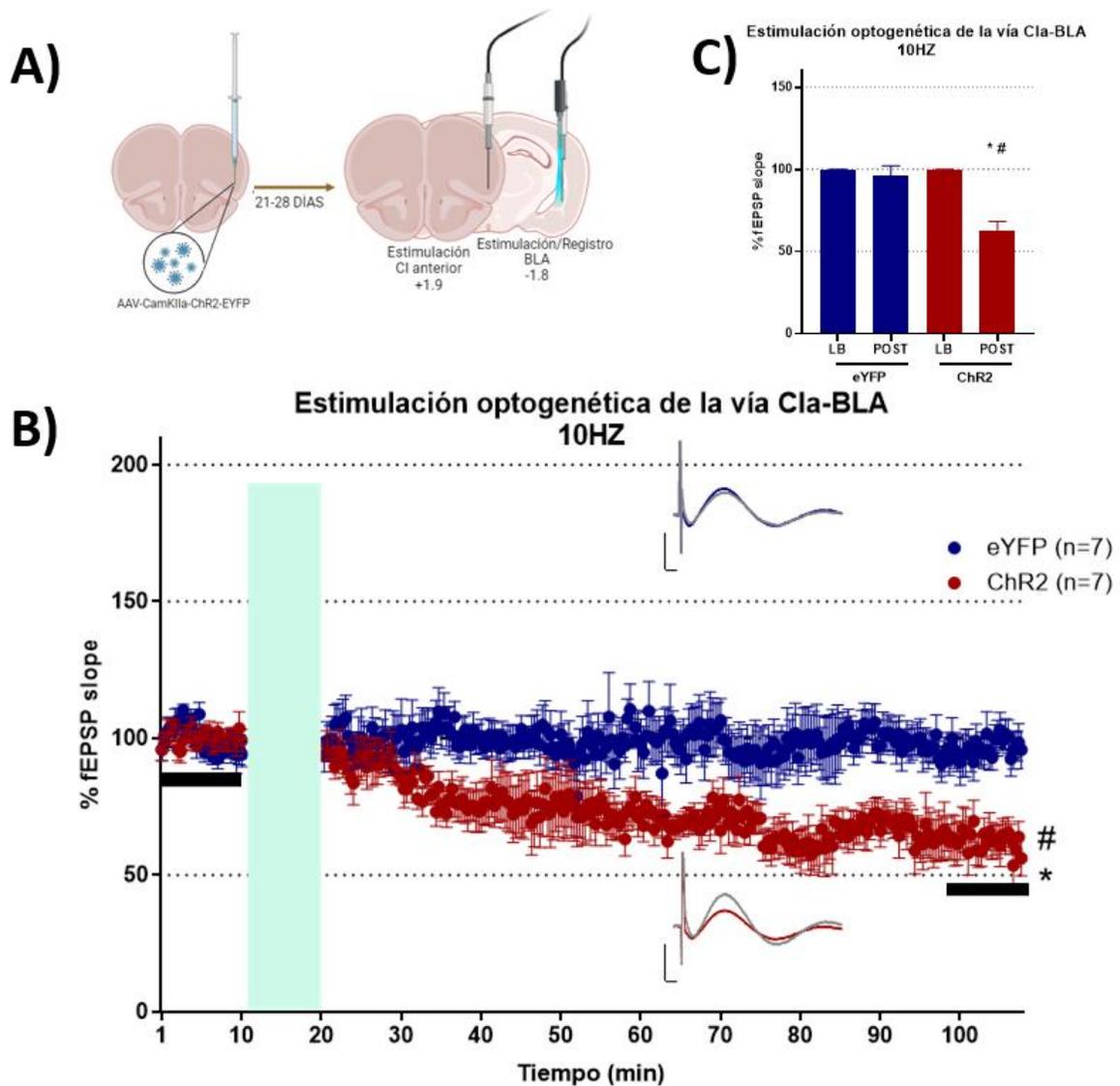


Figura 9. La estimulación optogenética de 10 Hz produce LTD en la vía ClA-BLA A) Representación gráfica la posición de electrodos y optrodos para el registro electrofisiológico. B) Gráfico que representa los cambios en la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogenética de 10Hz en la vía ClA-BLA. Se muestra que la estimulación de 10Hz produce una LTP pues, se observa una disminución significativa de la pendiente de los fEPSP tras la estimulación. Existen también diferencias significativas con el grupo control C) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base y los últimos 10 minutos del registro post-trenes en los grupos ChR2 y eYFP. Los recuadros negros en la figura B denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura C. Todos los datos se muestran como media \pm SEM. *Diferencia significativa contra línea base, #Diferencia significativa entre grupos.

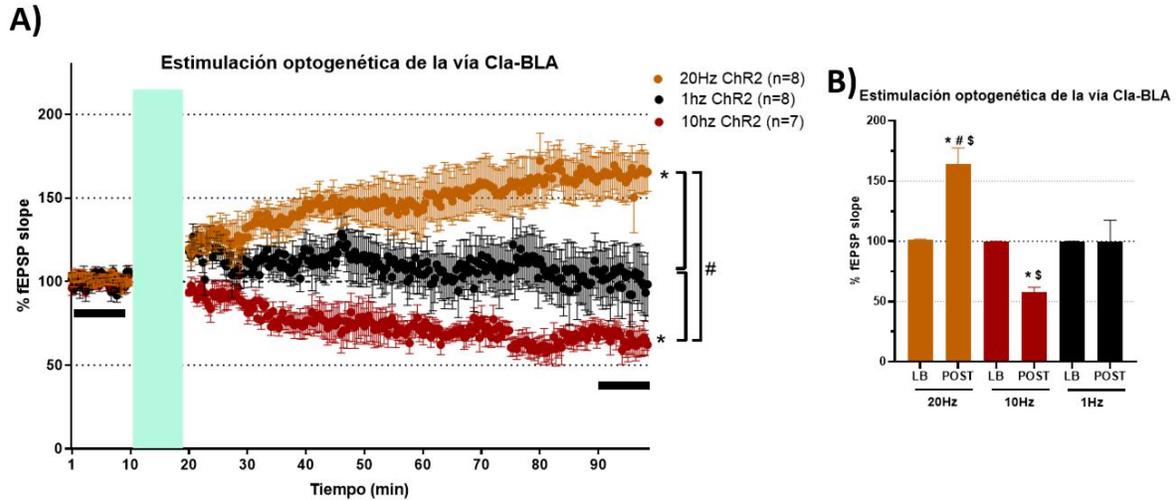


Figura 10. Resumen de las diferentes frecuencias de estimulación optogenética en la vía ClA-BLA. Se observa que la estimulación de 1 HZ no tiene efectos en la plasticidad sináptica. El ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto principal por la estimulación $F(5, 41) = 11.28$ $P < 0.05$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas entre la pendiente de los fEPSPs de la línea base y los post-trenes del grupo 20Hz ($P < 0.05$) y 10Hz en el grupo ChR2 ($P < 0.05$), también entre grupos se encontró diferencias significativas entre los grupos 20Hz vs 1 Hz ($P < 0.05$), 20Hz vs 10Hz ($P < 0.05$) y 10Hz vs 1Hz ($P < 0.05$). *Diferencias significativa contra línea base, #Diferencias significativa entre grupos. B) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la media de la línea base y la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes. Los recuadros negros en la figura A denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura B. *Diferencias significativa contra línea base, #Diferencias significativa entre post-trenes 20Hvs10Hz \$Diferencias significativa entre post-trenes 20Hvs1Hz y 10Hzvs1Hz. Todos los datos se muestran como media \pm SEM

Inhibición farmacológica de la vía ClA-BLA

La aplicación de APV elimina la LTP optogenética y desenmascara una LTP no dependiente de receptores NMDA

Con el fin de evaluar a los receptores responsables de los cambios plásticos presentados en la vía ClA-BLA por la fotoestimulación a diferentes frecuencias, decidimos utilizar antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA y AMPA. En la **figura 11** observamos la estrategia para el antagonismo de receptores NMDA. En la **fig. 11A** observa un gráfico de la posición de los electrodos: en la ClA se colocó un electrodo de estimulación y en la BLA un optrodo, que consistía en una fibra óptica que permitía la fotoestimulación y un electrodo de microinfusión conectado a una jeringa Hamilton, esto

permitía la fotoestimulación, el registro de las respuestas evocadas y la infusión del fármaco. En la **fig. 11B** observamos el protocolo de registro, que consistió en 10 minutos de línea base, seguido de la infusión de APV (10 mg/ml), un antagonista de los receptores NMDA (0.3µl a 0.25µl ml) o una solución salina (SS) isotónica al 0.9% como grupo control; después, se tomó una segunda línea base y tras estos 10 minutos, se fotoestimuló y finalmente se registraron las respuestas evocadas por hora y media. En la **Fig. 11C** se observa que la infusión de APV abolió la LTP inducida optogenéticamente a 20Hz, mientras que en el grupo ChR2 SS se produjo la LTP esperada. El ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto principal de grupo $F(3, 20) = 9.76$ $P < 0.05$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas entre la pendiente de los fEPSP de la línea base y los post-trenes del grupo ChR2 SS $P < 0.05$, mientras que el grupo ChR2 APV no se encontraron diferencias significativas $P = 0.57$. Adicionalmente se encontraron diferencias significativas entre la pendiente de los fEPSP pos-trenes entre el grupo ChR2 SS y ChR2 APV $P < 0.05$. En la **fig. 11D** se muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo 20Hz ChR2 APV (%fEPSPs LB 99.57 ± 2.56 ; %fEPSPs post-trenes 106.08 ± 2.79) y el grupo 20Hz ChR2 SS (%fEPSPs LB 100.19 ± 2.06 ; %fEPSPs post-trenes 151.34 ± 1.91), contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes.

Por otra parte, la infusión de APV desenmascaró una LTP no dependiente de receptores NMDA tras la estimulación de 10Hz en el grupo ChR2 APV, mientras que en el grupo ChR2 se produjo la LTD esperada (**Fig. 11E**). El ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto principal de grupo $F(3, 30) = 24.19$ $P < 0.05$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas en el aumento de la pendiente entre la línea base y

los post-trenes del grupo ChR2 APV $P < 0.05$, una disminución significativa de la pendiente de fEPSP entre línea base y post-trenes en el grupo ChR2 SS $P < 0.05$, y una diferencia en la pendiente de los fEPSS post-trenes entre los grupos ChR2 SS y ChR2 APV $P < 0.05$. En la **fig. 11F** se muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo 10Hz ChR2 APV (%fEPSPs LB 99.98 ± 1.32 ; %fEPSPs post-trenes 125.89 ± 1.6) y el grupo 10Hz ChR2 SS (%fEPSPs LB 102.21 ± 1.15 ; %fEPSPs post-trenes 78.56 ± 1.24), contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes

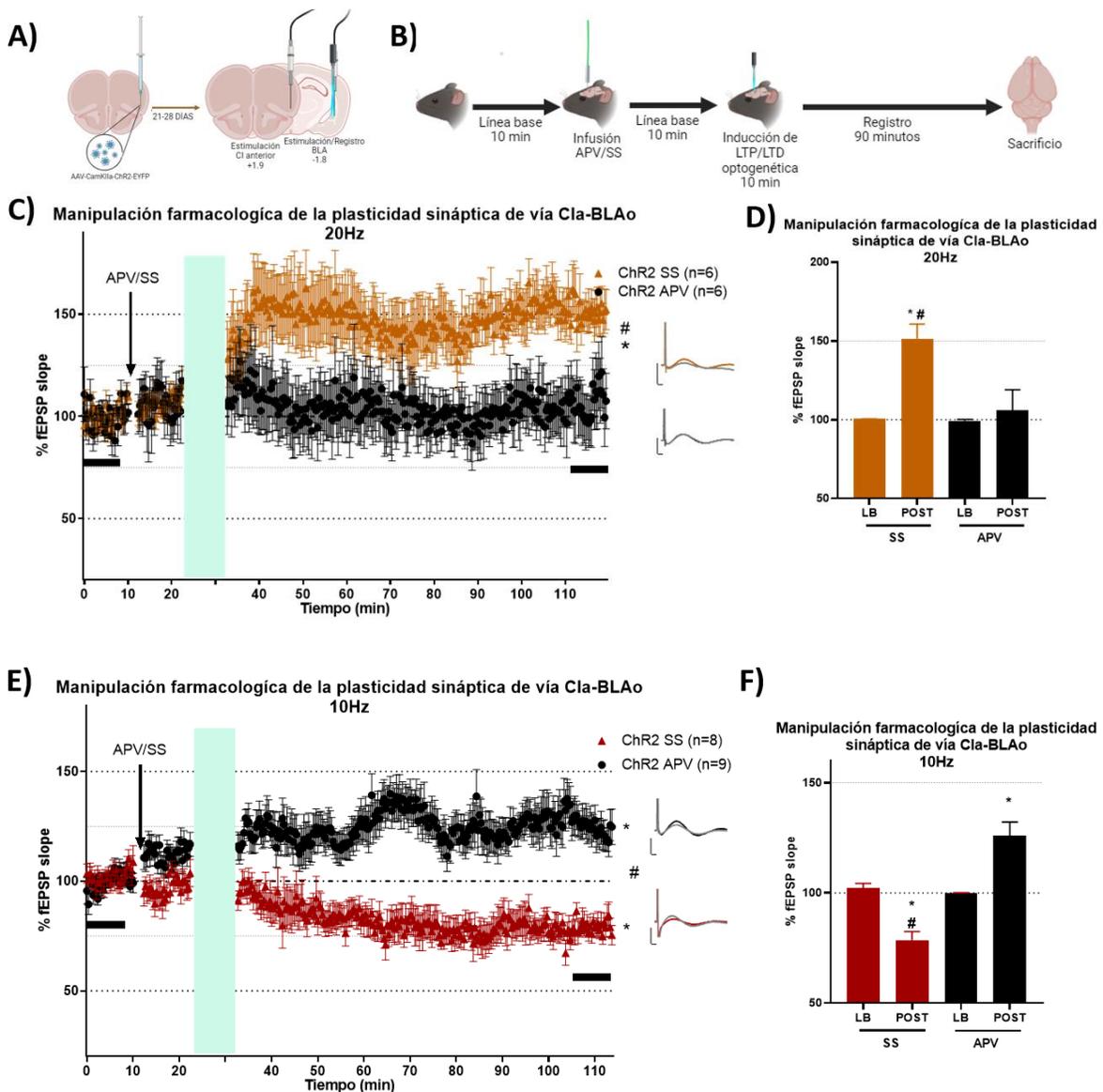


Figura 11. La aplicación de APV elimina la LTP optogenética y desenmascara una LTP no dependiente de receptores A) Representación gráfica la posición de electrodos y optrodos para el registro electrofisiológico. B) Representación gráfica del protocolo de registro electrofisiológico. C) Gráfico que representa los cambios en la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogenética de 20Hz en la vía CIA-BLA y el antagonismo de los receptores NMDA. La infusión de APV bloquea la inducción de LTP, mientras que en el grupo control (Chr2 SS) se induce la LTP esperada. D) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base y los últimos 10 minutos del registro post-trenes en los grupos 20Hz Chr2 APV y 20Hz Chr2 SS. E) Gráfico que representa los cambios en la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogenética de 10Hz en la vía CIA-BLA y el antagonismo de los receptores NMDA. La infusión de APV desenmascará una LTP no dependiente de receptores NMDA tras la estimulación de 10Hz en el grupo Chr2 APV, mientras que en el grupo 10Hz Chr2 SS se produjo la LTD esperada. También se encontraron diferencias significativas en la pendiente de los fEPSS post-trenes entre los grupos Chr2 SS y Chr2 APV. F) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la media de la línea base y la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes en los registros de los grupos 10Hz Chr2APV y 10Hz Chr2 SS. Los recuadros negros en la figura C y D denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura E y F, respectivamente. Todos los datos se muestran como media \pm SEM. *Diferencia significativa contra línea base, #Diferencia significativa entre grupos.

La aplicación de CNQX elimina la LTP y LTD optogenética

Finalmente, se evaluó el antagonismo de los receptores AMPA en la inducción de LTP o LTD en la vía CIA-BLA. Se siguió la misma estrategia experimental mencionada anteriormente, pero esta vez, se infundió CNQX un antagonista de los receptores AMPA (1mg/ml, 0.5 μ l a 0.25 μ l ml). Se observa en la **Fig. 12C** la infusión de CNQX abolió la LTP inducida por la fotoestimulación optogenética de 20Hz, mientras que en el grupo SS se produjo la LTP esperada. El ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto de grupo $F(3, 16) = 9.66$ $P < 0.05$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas de la pendiente de los fEPSP entre la línea base y la post-estimulación del grupo Chr2 SS $P < 0.05$, mientras que el grupo Chr2 CNQX no se encontraron diferencias significativas $P = 0.82$. Adicionalmente se encontraron diferencias significativas de la pendiente de los fEPSP post-estimulación entre el grupo Chr2 SS y Chr2 APV $P < 0.05$. En la **fig. 12D** se muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo 20Hz Chr2 CNQX (%fEPSPs LB 100.13 ± 4.0 ; %fEPSPs post-trenes 103.26 ± 2.78) y el

grupo 20Hz ChR2 SS (%fEPSPSs LB 100.19 ± 2.06 ; %fEPSPSs post-trenes 151.34 ± 1.91), contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes. Finalmente, en la **Fig. 12E** se observa que la infusión de CNQX abolió la LTD inducida por optogenética a 10Hz, mientras que el grupo control mostró una LTD en el grupo ChR2 SS. El ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto principal de grupo $F(3,32) = 3.29$ $P < 0.05$. La prueba post-hoc de Fisher mostró diferencias significativas en la disminución de la pendiente de los fEPSPS entre la línea base y los post-trenes del grupo 10 ChR2 SS $P < 0.05$, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas de la pendiente de fEPSP entre línea base y post-trenes en el grupo 10 ChR2 CNQX $P = 0.94$. También, se encontró una diferencia en la pendiente de los fEPSS post-trenes entre los grupos 10Hz ChR2 SS y 10Hz ChR2 CNQX $P < 0.05$. En la **fig. 12F** se muestra la representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base del grupo 10Hz ChR2 CNQX (%fEPSPSs LB 99.44 ± 1.07 ; %fEPSPSs post-trenes 95.06 ± 0.84) y el grupo 10Hz ChR2 SS (%fEPSPSs LB 102.21 ± 1.15 ; %fEPSPSs post-trenes 78.56 ± 1.24), contra la media de los últimos 10 minutos del registro post-trenes.

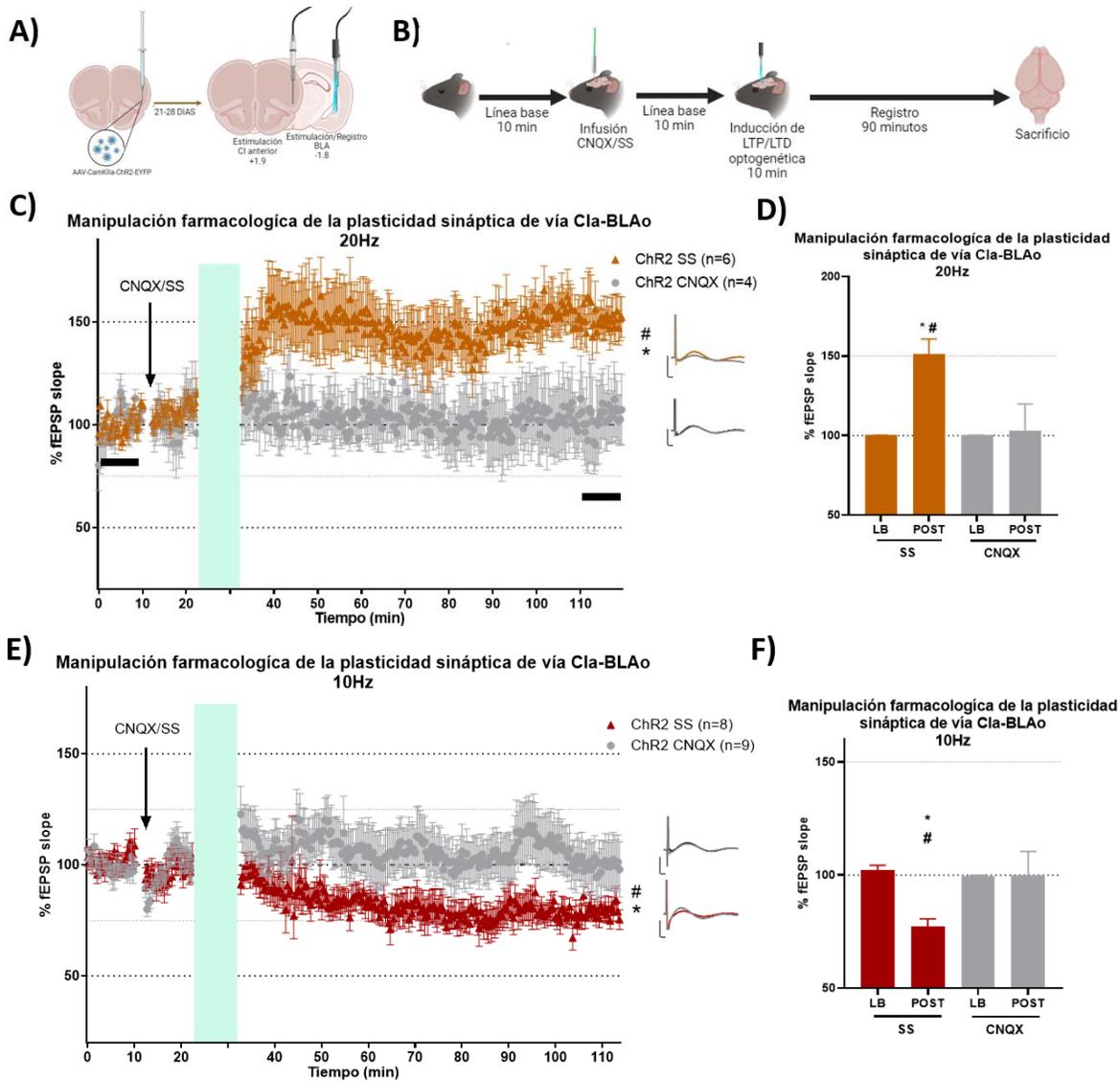


Figura 12. La aplicación de CNQX elimina la LTP y LTD optogénica A) Representación gráfica la posición de electrodos y optrodos para el registro electrofisiológico. B) Representación gráfica del protocolo de registro electrofisiológico. C) Gráfico que representa los cambios en la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogénica de 20Hz en la vía Cl-BLA y el antagonismo de los receptores AMPA. La infusión de CNQX bloquea la inducción de LTP, mientras que en el grupo control (ChR2 SS) se induce la LTP esperada. D) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la línea base y los últimos 10 minutos del registro post-trener en los grupos 20Hz ChR2 CNQX y 20Hz ChR2 SS. E) Gráfico que representa los cambios en la pendiente de los fEPSPs tras una estimulación optogénica de 10Hz en la vía Cl-BLA y el antagonismo de los receptores AMPA. La infusión de CNQX bloquea la inducción de LTD tras una estimulación de 10Hz en el grupo ChR2 CNQX, mientras que en el grupo 10Hz ChR2 SS se produjo la LTD esperada. También se encontraron diferencias significativas en la pendiente de los fEPSPs post-trener entre los grupos 10 ChR2 SS y 10 ChR2 CNQX. F) Representación gráfica de las diferencias significativa entre la media de la línea base y la media de los últimos 10 minutos del registro post-trener en los registros de los grupos 10Hz ChR2CNQX y 10Hz ChR2 SS. Los recuadros negros en la figura C y D denotan el periodo de tiempo que se grafica en figura E y F, respectivamente. Todos los datos se muestran como media \pm SEM. *Diferencia significativa contra línea base, #Diferencia significativa entre grupos.

DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar los cambios en la plasticidad sináptica del circuito neuronal descendente de la CI a la BLA, tanto de manera eléctrica como de manera optogenética. Esto nos permitió encontrar que la vía CIa-BLA muestra una modulación sináptica bimodal inducida por optogenética; mientras que la fotoestimulación de 20Hz es capaz de generar una LTP, la estimulación de 10Hz genera una LTD (figura 10). En su mayoría, los cambios en plasticidad son dependiente de los receptores NMDA y AMPA, sin embargo, el antagonismo de los receptores NMDA y una estimulación de 10Hz desenmascaró una LTP independiente de los receptores NMDA (figura 11).

La señal de la vía CIa-BLA presenta similitudes con la señal BLA-CI

Hasta donde nuestra revisión tuvo alcance, esta es la primera vez que se reporta la señal de los potenciales locales de campo de la vía CIa-BLA. Si bien, ya existían trabajos donde se describía la conexión anatómica (Gabbott et al., 2005; Kayyal et al., 2019) o conductualmente (Kayyal et al., 2019; Lavi et al., 2018; McGinnis et al., 2020; Wang et al., 2018) esta vía, ningún trabajo había reportado la morfología de la señal de los potenciales locales de campo o habían evaluado los cambios en la plasticidad sináptica inducidos por estimulación optogenética. Lo que observamos en este trabajo fue que la morfología de la señal de la vía CIa-BLA (figura 4) comparte los mismos elementos de la señal de la vía BLA-CI reportada en otros trabajos (Escobar et al., 1998; Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000; Rodríguez-Durán et al., 2017, 2023). Las medidas de amplitud de la señal, la media de la pendiente, la cresta y el pico de la señal de la vía CIa-BLA coinciden con los datos reportados por Rodríguez-Durán et al. (2017) de la vía BLA-CI. Es necesario un análisis

más fino de las propiedades electrofisiológicas para encontrar las diferencias y/o similitudes de ambas señales.

La vía C1a-BLA presenta cambios en la plasticidad sináptica de manera bimodal

Una vez establecida la morfología de señal de la vía C1a-BLA, se investigó la plasticidad sináptica al aplicar trenes de alta frecuencias (100Hz) de manera eléctrica y se comprobó, que al igual que la vía BLA-C1 (Escobar et al., 1998; Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000; Rodríguez-Durán et al., 2017, 2023), la vía descendente es capaz de generar una LTP (figura 4). Una vez confirmado que esta vía es susceptible a cambios en la plasticidad sináptica de manera eléctrica, se investigó si era posible inducir cambios en la fuerza sináptica de manera optogenética. Si bien, la estimulación electrofisiológica se puede realizar con alta precisión temporal, la optogenética nos permite estimular una población de neuronas específicas y causar menor daño celular (Masseck, 2018). Lo que se encontró fue que la vía C1a-BLA muestra una modulación sináptica bimodal, pues, a 20Hz se produjo una LTP y a 10Hz una LTD (figura 7, 9 y 10).

Como ya mencionamos, los mecanismos de LTP y LTD en gran parte están mediados por la actividad de Ca^{2+} . Se ha sugerido que los patrones espaciotemporales de la actividad de Ca^{2+} son uno de los factores que controlan los cambios en la plasticidad sináptica en respuesta a la estimulación, particularmente en la especificidad de las entradas sinápticas a las dendritas (cooperatividad) y la permeabilidad de los canales de Ca^{2+} (especificidad) (Augustine et al., 2003; Jędrzejewska-Szmek et al., 2023; Kornijcuk et al., 2020; Magee & Johnston, 1997). En la post-sinapsis la inducción de LTP y LTD parece depender de la actividad relativa de las cinasas y las fosfatasas, mientras que la actividad predominante de la cinasa conduce a LTP (a través de la fosforilación de varios sustratos),

la actividad de la fosfatasa conduce a LTD. La concentración intracelular de Ca^{2+} es el principal desencadenante de la inducción de LTD/LTP (Castellani et al., 2001; Jedlicka, 2002). El modelo ABS postulado por Artola, Brocher y Singer, se incorporan ideas de modelo BCM (Bienenstock et al., 1982; Keck et al., 2017) y la actividad de Ca^{2+} . Este modelo formula que existen dos umbrales de la concentración de Ca^{2+} dependientes del voltaje para LTD y LTP, si se alcanza el primer umbral las sinapsis activadas se deprimen y si se alcanza el segundo umbral, que requiere una despolarización más fuerte, las sinapsis activadas se potencian (Artola & Singer, 1993; Jedlicka, 2002).

Esto parece indicar que estimular las neuronas glutamatérgicas de la vía C1a-BLA, en sus diferentes frecuencias, permite la entrada de Ca^{2+} en estos umbrales lo que es capaz de generar una LTP o LTD. En el caso de la estimulación de 20Hz que produce una LTP (figura 7) la actividad de CaMKII, promotor bajo el cual se expresó la proteína ChR2 y lo que permitía la fotoestimulación, ha reportado ser importante en la inducción y expresión de la LTP (Hayashi, 2022; Jedlicka, 2002; Murakoshi et al., 2017). Se ha reportado que la estimulación de alta frecuencia provoca una activación prolongada de CaMKII, una cinasa implicada en la génesis de la LTP (Lisman et al., 2012). CaMKII es capaz de fosforilar diversos substratos, entre ellos la subunidad GluA1 del receptor AMPA, las subunidades GluN2A y 2B del receptor NMDA, el factor de transcripción CREB, entre otros (Hayashi, 2022). Se ha demostrado que la actividad de CaMKII es importante sólo en la inducción y expresión de la LTP, aunque no el mantenimiento, pues la inhibición de CaMKII 1 minuto después de estimulación no afecta el mantenimiento de la LTP (Murakoshi et al., 2017). Por otra parte, la estimulación de 10Hz en la vía C1a-BLA produce una LTD (figura 9). La estimulación de 10Hz permite la entrada de Ca^{2+} , sin embargo, el umbral de Ca^{2+} no activa

cinastas, sino fosfatasas (Castellani et al., 2001; Jedlicka, 2002), particularmente la proteína fosfatasa 2B, la cual desfosforila el inhibidor-1, lo que conduce a la activación de la proteína fosfatasa 1. A su vez, esta fosfatasa desfosforila, entre ellos, la subunidad GluA1 de los receptores AMPA (Collingridge et al., 2010), esto produce la endocitosis de estos receptores y por lo tanto, una disminución de la eficiencia sináptica (Collingridge et al., 2010; Yu et al., 2008). Es importante señalar que a 1hz, no se produjo ningún cambio en la eficiencia sináptica (figura 8), esto podría estar relacionado a las propiedades del canal ChR2, pues se ha demostrado que la cinética de esta opsina le permite responder con mayor fidelidad a frecuencias de entre 5 a 30Hz (Boyden et al., 2005), por lo que una estimulación de 10 o 20Hz permite la despolarización de la neurona y la posterior entrada de Ca^{2+} , mientras que 1Hz esto no sucede. Si bien, Nabavi et al., (2014) reportó una LTD con una estimulación de 1hz, tanto los patrones de estimulación como la proteína sensible a la luz, fueron diferentes. Nabavi et al., utilizó oChIEF, una proteína sensible a la luz variante de la proteína ChR2 con otras propiedades cinéticas (Nabavi et al., 2014).

El antagonismo de los receptores NMDA en la vía C1a-BLA desenmascara una LTP independiente de los mismos

Se ha reportado que la conectividad de la vía C1a-BLA es de tipo glutamatérgica (McDonald, 1992, 1998; McGinnis et al., 2020), por esto se investigó si los cambios plásticos encontrados correspondían únicamente a la actividad del glutamato. Con el fin de investigarlo, se infundió antagonistas de los receptores NMDA y AMPA. Como era de esperarse, el antagonismo de los receptores AMPA bloque la inducción y expresión de la LTD y LTD (figura 12), pues el bloqueo de estos receptores impide la despolarización de la

post-sinápsis y, por lo tanto, no hay entrada de Ca^{2+} , mecanismo esencial para la inducción y expresión de LTP y LTD (Alkadhi, 2021; Sah et al., 2003).

Sin embargo, el hallazgo más interesante fue que el bloqueo de los receptores NMDA ante la estimulación de 10Hz, en vez de bloquear la inducción y expresión de LTD, desenmascará una LTP independiente de los receptores NMDA (figura 11E). Aunque no en la amígdala, se ha reportado que en la corteza visual el bloqueo de los receptores NDMA con APV desenmascara una LTP independiente de los receptores NMDA (Li et al., 2017). En este trabajo en animales re-expuestos a luz después de ser privados desde el nacimiento se encontró una LTD, sin embargo, la aplicación de APV en vez de eliminar la LTD la convirtió en una LTP, esta era bloqueada por antagonistas de los receptores mGlu5 y era dependiente de la actividad de postsináptica de Ca^{2+} , de la actividad de PKC, de CamKII y de la síntesis de proteínas (Li et al., 2017). Los autores concluyen que, bajo condiciones farmacológicas específicas el sistema pone en acción mecanismos homeostáticos que inhiben la plasticidad dependiente de los receptores NMDA y promueve otro tipo de plasticidad. En el sistema nervioso se han identificado dos tipos cambios plásticos expresados como LTP: el primer tipo depende de la activación de los receptores NMDA y el segundo es independiente de los receptores NMDA y puede implicar la activación de receptores mGlu o receptores ionotrópicos distintos de NMDA, como el receptor nicotínico de acetilcolina (nACh), el receptor de serotonina (5-HT₃), el receptor de glutamato AMPA permeable al Ca^{2+} (CP-AMPA) (Alkadhi, 2021) o de los canales VGCC (Bauer et al., 2002; Blair et al., 2001; Fu & Shinnick-Gallagher, 2005). Aunque se tendrían que realizar más experimentos, tenemos algunas hipótesis de sobre el origen de nuestra LTP no dependiente de receptores NMDA.

La primera hipótesis del mecanismo responsable de la LTP independiente de los receptores NMDA que reportamos aquí es que, a una estimulación de 10Hz y el bloqueo de los receptores NMDA se activa receptores metabotrópicos mGlu, lo que produce una LTP en la vía C1a-BLA. Se ha demostrado la existencia de LTP dependientes de los receptores glutamatérgicos de tipo metabotrópicos mGlu (Sokolov et al., 2003). En la amígdala, el antagonismo de los receptores mGlu5 bloqueó la expresión de una LTP talamo-amigdalina (Lee et al., 2002; Rodrigues et al., 2002). Así mismo, en el antagonismo de los receptores mGlu7 atenúa, pero no bloquea, la inducción y expresión de la LTP (Gee et al., 2014). Finalmente, la inducción de LTP se ve afectada en animales knock-out a los receptores mGlu7 (Fendt et al., 2013).

La segunda hipótesis sobre los responsables de la LTP independiente de los receptores NMDA es la participación de los canales VGCC. Como se ha mencionado, la inducción de cambios plásticos ya sea LTP o LTD, parecen depender de la actividad del Ca^{2+} (Castellani et al., 2001; Jedlicka, 2002). Se ha reportado que el Ca^{2+} puede ingresar a la célula postsináptica a través de varios canales, incluidos los receptores NMDA y VGCC, y la LTP puede inducirse de tal manera que involucre a uno (Bauer et al., 2002; Jędrzejewska-Szmek et al., 2023; Lin et al., 2024; Magee & Johnston, 1997) o ambos canales (Cavus & Teyler, 1996). El bloqueo de los canales VGCC de tipo L, pero no de los receptores NMDA, impide la expresión de la LTP en las sinapsis de entrada talámicas en la amígdala, lo que demostró una LTP dependiente de los canales VGCC en la amígdala (Bauer et al., 2002). En otro trabajo Fu y colaboradores demostraron que en conexiones intraamigdalinas existen LTP independientes de los receptores NMDA. En el trabajo de Fu y Shinnick-Gallagher (2005) evocaron una LTP que no se bloquea ante el antagonista APV

o el bloqueador del canal GABA_A, pero sí era bloqueada por nimodipina, un bloqueador de los VGCC tipo L (Fu & Shinnick-Gallagher, 2005). Así mismo, en la vía BLA-CeA, el bloqueo de la inducción de LTP por antagonistas de NMDA o de VGCC sugirió que ambos canales son necesarios para la flujo de Ca²⁺ (Fu & Shinnick-Gallagher, 2005). Si bien, los mecanismos para la inducción de este tipo de LTP independiente de los receptores NMDA son complejos, la manera de comprobar si esto es lo que está pasando en nuestro grupo que desenmascara una LTP por el antagonismo de los receptores NMDA ante la estimulación de 10Hz es utilizar antagonistas de los receptores mGlu o de los VGCC.

Conductualmente, se ha reportado una diferencia en los tipos de memoria por el flujo de Ca²⁺ dependiendo del canal por el que ingrese, por ejemplo, Walker y Davis (2000) reportaron que la subunidad NR2B de los receptores NMDA están implicados en la memoria de corto plazo (Walker & Davis, 2000). Por otra parte, en la memoria de largo plazo de un tarea de miedo condicionado es importante la flujo de Ca²⁺ por el receptor NMDA y por los VGCC tipo L, pues el bloqueo de ambos receptores bloquea la expresión de la memoria (Bauer et al., 2002; Blair et al., 2001). Bajo la hipótesis que la LTP no dependiente de receptores NMDA que encontramos (figura 11E) depende los canales VGCC, sería interesante evaluar el efecto en la conducta y si difiere de la LTP dependiente de los receptores NMDA.

Perspectivas

Si bien, se ha reportado la LTP y la LTD como substratos del aprendizaje y memoria (Collingridge et al., 2010; Dalton et al., 2008; Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000; Goto, 2022; Lynch, 2004; Matsuzaki et al., 2004; Nicoll, 2017; Rodríguez-Durán et al., 2017, 2023), existe poca información de como los cambios en la eficacia sináptica en la vía Cl-

BLA modula la conducta. La inducción de una LTD en la proyección BLA-CI previa al entrenamiento de CAS facilita la extinción del CAS, mientras que la inducción una LTP mejora la retención del CAS (Rodríguez-Durán et al., 2017), lo que señala un importante papel de la vía ascendente en el procesamiento de la información gustativa y visceral, especialmente en los mecanismos de extinción. En el caso de la vía descendente, algunos reportes indican que la inhibición de la vía durante la adquisición y evocación de un CAS resultó en una disminución significativa en la prueba de memoria (Kayyal et al., 2019). Estos datos parecen indicar una importante participación de esta vía en la memoria de condicionamiento al sabor en su señalización ascendente y descendente, sin embargo, más estudios son necesarios para delimitar las diferencias y similitudes en el procesamiento de la información gustativa, así como la participación en otras tareas.

Por otra parte, se ha demostrado que el bloqueo en LA de la subunidad GluN2A impide la inducción de LTP y compromete la adquisición de un condicionamiento de miedo, mientras que el bloqueo de subunidad GluN2B impide inducción de LTD y afecta la extinción de una respuesta condicionada al miedo (Dalton et al., 2012). Así mismo, se ha reportado que el bloqueo de la LTD impide la extinción de un condicionamiento al miedo (Dalton et al., 2008), mientras que su expresión promueve la extinción de un condicionamiento aversivo al sabor (Rodríguez-Durán et al., 2017), lo que sugiere que la LTD puede ser un mecanismo que suprime las respuestas inapropiadas (Dalton et al., 2012). Una perspectiva importante de nuestro trabajo es determinar el efecto de la LTD de la vía CIa-BLA en la memoria.

CONCLUSIONES

A través del uso de estimulación optogenética comprobamos que la vía C1a-BLA es sensible a cambios en la plasticidad sináptica. La vía C1a-BLA muestra una modulación sináptica bimodal; mientras que la estimulación optogenética de 20Hz es capaz de generar una LTP, la estimulación de 10Hz genera una LTD. Los cambios en la plasticidad sináptica de esta vía están asociados a la actividad de los receptores glutamatérgicos pues, la LTP y LTD de esta vía es abolida por antagonistas de receptores NMDA y AMPA. Sin embargo, el antagonismo de los receptores NMDA ante la estimulación de 10Hz desenmascara una LTP no dependiente de receptores NMDA. Si bien, los mecanismos de este fenómeno son desconocidos, es probable que participen otros receptores como los mGlu o los canales VGCC. Finalmente, es importante evaluar el papel de los cambios plásticos en la vía C1a-BLA en la memoria, así como de los diferentes tipos de cambios plásticos reportados aquí.

REFERENCIAS

- Abraham, W. C., & Williams, J. M. (2003). Properties and Mechanisms of LTP Maintenance. *The Neuroscientist*, 9(6), 463–474.
<https://doi.org/10.1177/1073858403259119>
- Agoitia, A., Cruz-Sanchez, A., Balderas, I., & Bermúdez-Rattoni, F. (2024). The anterior insula and its projection to amygdala nuclei modulate the abstinence-exacerbated expression of conditioned place preference. *Psychopharmacology*, 241(3), 445–459.
<https://doi.org/10.1007/s00213-023-06499-0>
- Alkadhi, K. A. (2021). NMDA receptor-independent LTP in mammalian nervous system. *Progress in Neurobiology*, 200, 101986.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101986>

- Almaguer-Melian, W., Bergado, J. A., Martí, L. M., Duany-Machado, C., & Frey, J. U. (2010). Basolateral amygdala stimulation does not recruit LTP at depotentiated synapses. *Physiology & Behavior*, *101*(4), 549–553. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.07.007>
- Artola, A., & Singer, W. (1993). Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation. *Trends in Neurosciences*, *16*(11), 480–487. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(93\)90081-V](https://doi.org/10.1016/0166-2236(93)90081-V)
- Augustine, G. J., Santamaria, F., & Tanaka, K. (2003). Local Calcium Signaling in Neurons. *Neuron*, *40*(2), 331–346. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00639-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00639-1)
- Balleine, B. W., & Killcross, S. (2006). Parallel incentive processing: An integrated view of amygdala function. *Trends in Neurosciences*, *29*(5), 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.03.002>
- Barberini, C. L., Morrison, S. E., Saez, A., Lau, B., & Salzman, C. D. (2012). Complexity and Competition in Appetitive and Aversive Neural Circuits. *Frontiers in Neuroscience*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00170>
- Barria, A., Muller, D., Derkach, V., Griffith, L. C., & Soderling, T. R. (1997). Regulatory Phosphorylation of AMPA-Type Glutamate Receptors by CaM-KII During Long-Term Potentiation. *Science*, *276*(5321), 2042–2045. <https://doi.org/10.1126/science.276.5321.2042>
- Bauer, E. P., Schafe, G. E., & LeDoux, J. E. (2002). NMDA Receptors and L-Type Voltage-Gated Calcium Channels Contribute to Long-Term Potentiation and Different Components of Fear Memory Formation in the Lateral Amygdala. *The Journal of Neuroscience*, *22*(12), 5239–5249. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-12-05239.2002>

- Bear, M. F. (1996). A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(24), 13453–13459. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13453>
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2016). Memory systems. En *Neuroscience: Exploring the brain* (4a edition, pp. 823–864). Wolters Kluwer.
- Becker, N., Wierenga, C. J., Fonseca, R., Bonhoeffer, T., & Nägerl, U. V. (2008). LTD Induction Causes Morphological Changes of Presynaptic Boutons and Reduces Their Contacts with Spines. *Neuron*, 60(4), 590–597. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.09.018>
- Bermúdez-Rattoni, F. (2004). Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(3), 209–217. <https://doi.org/10.1038/nrn1344>
- Bermúdez-Rattoni, F. (2014). The forgotten insular cortex: Its role on recognition memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 109, 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.01.001>
- Beyeler, A., Chang, C.-J., Silvestre, M., Lévêque, C., Namburi, P., Wildes, C. P., & Tye, K. M. (2018). Organization of Valence-Encoding and Projection-Defined Neurons in the Basolateral Amygdala. *Cell Reports*, 22(4), 905–918. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.12.097>
- Bienenstock, E., Cooper, L., & Munro, P. (1982). Theory for the development of neuron selectivity: Orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *The Journal of Neuroscience*, 2(1), 32–48. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.02-01-00032.1982>

- Bisaz, R., Travaglia, A., & Alberini, C. M. (2014). The Neurobiological Bases of Memory Formation: From Physiological Conditions to Psychopathology. *Psychopathology*, 47(6), 347–356. <https://doi.org/10.1159/000363702>
- Bissière, S., Humeau, Y., & Lüthi, A. (2003). Dopamine gates LTP induction in lateral amygdala by suppressing feedforward inhibition. *Nature Neuroscience*, 6(6), 587–592. <https://doi.org/10.1038/nn1058>
- Blair, H. T., Schafe, G. E., Bauer, E. P., Rodrigues, S. M., & LeDoux, J. E. (2001). Synaptic Plasticity in the Lateral Amygdala: A Cellular Hypothesis of Fear Conditioning. *Learning & Memory*, 8(5), 229–242. <https://doi.org/10.1101/lm.30901>
- Bliss, T. V. P., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31–39. <https://doi.org/10.1038/361031a0>
- Bliss, T. V. P., & Cooke, S. F. (2011). Long-term potentiation and long-term depression: A clinical perspective. *Clinics*, 66, 3–17. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322011001300002>
- Bliss, T. V. P., & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–356. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>
- Boglári, G., Erhardt, P., Cooper, G. M., & Szeberényi, J. (1998). Intact Ras function is required for sustained activation and nuclear translocation of extracellular signal-regulated kinases in nerve growth factor-stimulated PC12 cells. *European Journal of Cell Biology*, 75(1), 54–58. [https://doi.org/10.1016/S0171-9335\(98\)80046-0](https://doi.org/10.1016/S0171-9335(98)80046-0)

- Bortolotto, Z. A., & Collingridge, G. L. (1993). Characterisation of LTP induced by the activation of glutamate metabotropic receptors in area CA1 of the hippocampus. *Neuropharmacology*, *32*(1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(93\)90123-K](https://doi.org/10.1016/0028-3908(93)90123-K)
- Boyden, E. S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., & Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nature Neuroscience*, *8*(9), 1263–1268. <https://doi.org/10.1038/nn1525>
- Brasser, S. M., Silbaugh, B. C., Ketchum, M. J., Olney, J. J., & Lemon, C. H. (2012). Chemosensory responsiveness to ethanol and its individual sensory components in alcohol-preferring, alcohol-nonpreferring and genetically heterogeneous rats: Ethanol chemosensory responses. *Addiction Biology*, *17*(2), 423–436. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00415.x>
- Castellani, G. C., Quinlan, E. M., Cooper, L. N., & Shouval, H. Z. (2001). A biophysical model of bidirectional synaptic plasticity: Dependence on AMPA and NMDA receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(22), 12772–12777. <https://doi.org/10.1073/pnas.201404598>
- Cavus, I., & Teyler, T. (1996). Two forms of long-term potentiation in area CA1 activate different signal transduction cascades. *Journal of Neurophysiology*, *76*(5), 3038–3047. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.5.3038>
- Chareyron, L. J., Banta Lavenex, P., Amaral, D. G., & Lavenex, P. (2011). Stereological analysis of the rat and monkey amygdala. *The Journal of Comparative Neurology*, *519*(16), 3218–3239. <https://doi.org/10.1002/cne.22677>
- Collingridge, G. L., Peineau, S., Howland, J. G., & Wang, Y. T. (2010). Long-term depression in the CNS. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*(7), 459–473. <https://doi.org/10.1038/nrn2867>

- Cook, S. G., Rumian, N. L., & Bayer, K. U. (2022). CaMKII T286 phosphorylation has distinct essential functions in three forms of long-term plasticity. *Journal of Biological Chemistry*, 298(9), 102299. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102299>
- Cosme, C. V., Gutman, A. L., & LaLumiere, R. T. (2015). The Dorsal Agranular Insular Cortex Regulates the Cued Reinstatement of Cocaine-Seeking, but not Food-Seeking, Behavior in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 40(10), 2425–2433. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.92>
- Dalton, G. L., Wang, Y. T., Floresco, S. B., & Phillips, A. G. (2008). Disruption of AMPA Receptor Endocytosis Impairs the Extinction, but not Acquisition of Learned Fear. *Neuropsychopharmacology*, 33(10), 2416–2426. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301642>
- Dalton, G. L., Wu, D. C., Wang, Y. T., Floresco, S. B., & Phillips, A. G. (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(2), 797–806. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.09.001>
- Dityatev, A. E., & Bolshakov, V. Y. (2005). Amygdala, Long-term Potentiation, and Fear Conditioning. *The Neuroscientist*, 11(1), 75–88. <https://doi.org/10.1177/1073858404270857>
- Duszkiewicz, A. J., McNamara, C. G., Takeuchi, T., & Genzel, L. (2019). Novelty and Dopaminergic Modulation of Memory Persistence: A Tale of Two Systems. *Trends in Neurosciences*, 42(2), 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.10.002>

- Ehrlich, I., Humeau, Y., Grenier, F., Ciocchi, S., Herry, C., & Lüthi, A. (2009). Amygdala Inhibitory Circuits and the Control of Fear Memory. *Neuron*, 62(6), 757–771. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.026>
- Eichenbaum, H. (2010). Memory systems. *WIREs Cognitive Science*, 1(4), 478–490. <https://doi.org/10.1002/wcs.49>
- Enoki, R., Hu, Y., Hamilton, D., & Fine, A. (2009). Expression of Long-Term Plasticity at Individual Synapses in Hippocampus Is Graded, Bidirectional, and Mainly Presynaptic: Optical Quantal Analysis. *Neuron*, 62(2), 242–253. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.02.026>
- Escobar, M. L., & Bermúdez-Rattoni, F. (2000). Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research*, 852(1), 208–212. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02134-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02134-4)
- Escobar, M. L., Chao, V., & Bermúdez-Rattoni, F. (1998). In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Research*, 779(1–2), 314–319. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01175-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01175-X)
- Faber, E. S. L., Callister, R. J., & Sah, P. (2001). Morphological and Electrophysiological Properties of Principal Neurons in the Rat Lateral Amygdala In Vitro. *Journal of Neurophysiology*, 85(2), 714–723. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.2.714>
- Feldstein-Ewing, S. W., Filbey, F. M., Chandler, L. D., & Hutchison, K. E. (2010). Exploring the Relationship Between Depressive and Anxiety Symptoms and Neuronal Response to Alcohol Cues. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 34(3), 396–403. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01104.x>
- Fendt, M., Imobersteg, S., Peterlik, D., Chaperon, F., Mattes, C., Wittmann, C., Olpe, H.-R., Mosbacher, J., Vranesic, I., Van Der Putten, H., McAllister, K. H., Flor, P. J., &

- Gee, C. E. (2013). Differential roles of mGlu7 and mGlu8 in amygdala-dependent behavior and physiology. *Neuropharmacology*, 72, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.052>
- Filbey, F. M., Claus, E., Audette, A. R., Niculescu, M., Banich, M. T., Tanabe, J., Du, Y. P., & Hutchison, K. E. (2008). Exposure to the Taste of Alcohol Elicits Activation of the Mesocorticolimbic Neurocircuitry. *Neuropsychopharmacology*, 33(6), 1391–1401. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301513>
- Frey, U., Huang, Y.-Y., & Kandel, E. R. (1993). Effects of cAMP Simulate a Late Stage of LTP in Hippocampal CA1 Neurons. *Science*, 260(5114), 1661–1664. <https://doi.org/10.1126/science.8389057>
- Fu, Y., & Shinnick-Gallagher, P. (2005). Two Intra-Amygdaloid Pathways to the Central Amygdala Exhibit Different Mechanisms of Long-Term Potentiation. *Journal of Neurophysiology*, 93(5), 3012–3015. <https://doi.org/10.1152/jn.00871.2004>
- Gabbott, P. L. A., Warner, T. A., Jays, P. R. L., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of Comparative Neurology*, 492(2), 145–177. <https://doi.org/10.1002/cne.20738>
- Galván, E. J., Cosgrove, K. E., Mauna, J. C., Card, J. P., Thiels, E., Meriney, S. D., & Barrionuevo, G. (2010). Critical Involvement of Postsynaptic Protein Kinase Activation in Long-Term Potentiation at Hippocampal Mossy Fiber Synapses on CA3 Interneurons. *The Journal of Neuroscience*, 30(8), 2844–2855. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5269-09.2010>
- Gee, C. E., Peterlik, D., Neuhäuser, C., Bouhelal, R., Kaupmann, K., Laue, G., Uschold-Schmidt, N., Feuerbach, D., Zimmermann, K., Ofner, S., Cryan, J. F., Van Der

- Putten, H., Fendt, M., Vranesic, I., Glatthar, R., & Flor, P. J. (2014). Blocking Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 7 (mGlu7) via the Venus Flytrap Domain (VFTD) Inhibits Amygdala Plasticity, Stress, and Anxiety-related Behavior. *Journal of Biological Chemistry*, 289(16), 10975–10987. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.542654>
- Gogolla, N. (2017). The insular cortex. *Current Biology*, 27(12), R580–R586. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.010>
- Gore, F., Schwartz, E. C., Brangers, B. C., Aladi, S., Stujenske, J. M., Likhtik, E., Russo, M. J., Gordon, J. A., Salzman, C. D., & Axel, R. (2015). Neural Representations of Unconditioned Stimuli in Basolateral Amygdala Mediate Innate and Learned Responses. *Cell*, 162(1), 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.027>
- Goto, A. (2022). Synaptic plasticity during systems memory consolidation. *Neuroscience Research*, 183, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2022.05.008>
- Gruart, A., Leal-Campanario, R., López-Ramos, J. C., & Delgado-García, J. M. (2015). Functional basis of associative learning and its relationships with long-term potentiation evoked in the involved neural circuits: Lessons from studies in behaving mammals. *Neurobiology of Learning and Memory*, 124, 3–18. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.04.006>
- Gründemann, J., & Lüthi, A. (2015). Ensemble coding in amygdala circuits for associative learning. *Current Opinion in Neurobiology*, 35, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.10.005>
- Guedes-Dias, P., & Holzbaur, E. L. F. (2019). Axonal transport: Driving synaptic function. *Science*, 366(6462). <https://doi.org/10.1126/science.aaw9997>

- Guzmán-Ramos, K., Moreno-Castilla, P., Castro-Cruz, M., McGaugh, J. L., Martínez-Coria, H., LaFerla, F. M., & Bermúdez-Rattoni, F. (2012). Restoration of dopamine release deficits during object recognition memory acquisition attenuates cognitive impairment in a triple transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Learning & Memory*, *19*(10), 453–460. <https://doi.org/10.1101/lm.026070.112>
- Guzmán-Ramos, K., Venkataraman, A., Morin, J.-P., Osorio-Gómez, D., & Bermúdez-Rattoni, F. (2018). Differential requirement of de novo Arc protein synthesis in the insular cortex and the amygdala for safe and aversive taste long-term memory formation. *Behavioural Brain Research*, *342*, 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.006>
- Hayashi, Y. (2022). Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation – Towards multiscale understanding of learning and memory. *Neuroscience Research*, *175*, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2021.08.001>
- Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior*. Wiley.
- Huang, Y. Y., & Kandel, E. R. (1994). Recruitment of long-lasting and protein kinase A-dependent long-term potentiation in the CA1 region of hippocampus requires repeated tetanization. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *1*(1), 74–82.
- Janak, P. H., & Tye, K. M. (2015). From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature*, *517*(7534), 284–292. <https://doi.org/10.1038/nature14188>
- Jaramillo, A. A., Van Voorhies, K., Randall, P. A., & Besheer, J. (2018). Silencing the insular-striatal circuit decreases alcohol self-administration and increases sensitivity to alcohol. *Behavioural Brain Research*, *348*, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.04.007>

- Jedlicka, P. (2002). Synaptic plasticity, metaplasticity and BCM theory. *Bratislavské Lekárske Listy*, 103(4–5), 137–143.
- Jędrzejewska-Szmek, J., Dorman, D. B., & Blackwell, K. T. (2023). Making time and space for calcium control of neuron activity. *Current Opinion in Neurobiology*, 83, 102804. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102804>
- Jensen, J., Smith, A. J., Willeit, M., Crawley, A. P., Mikulis, D. J., Vitcu, I., & Kapur, S. (2007). Separate brain regions code for salience vs. Valence during reward prediction in humans. *Human Brain Mapping*, 28(4), 294–302. <https://doi.org/10.1002/hbm.20274>
- Josselyn, S. A., & Tonegawa, S. (2020). Memory engrams: Recalling the past and imagining the future. *Science*, 367(6473), eaaw4325. <https://doi.org/10.1126/science.aaw4325>
- Kandel, E. R., & Squire, L. R. (2000). Neuroscience: Breaking Down Scientific Barriers to the Study of Brain and Mind. *Science*, 290(5494), 1113–1120. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1113>
- Kang, S. J., & Kaang, B.-K. (2016). Metabotropic glutamate receptor dependent long-term depression in the cortex. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 20(6), 557. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2016.20.6.557>
- Kauer, J. A., & Malenka, R. C. (2007). Synaptic plasticity and addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(11), 844–858. <https://doi.org/10.1038/nrn2234>
- Kayyal, H., Yiannakas, A., Kolatt Chandran, S., Khamaisy, M., Sharma, V., & Rosenblum, K. (2019). Activity of Insula to Basolateral Amygdala Projecting Neurons is Necessary and Sufficient for Taste Valence Representation. *The Journal of*

- Neuroscience*, 39(47), 9369–9382. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0752-19.2019>
- 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. *Current Opinion in Neurobiology*, 43, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.02.003>
- Kempainen, S., & Pitkänen, A. (2000). Distribution of parvalbumin, calretinin, and calbindin-D28k immunoreactivity in the rat amygdaloid complex and colocalization with γ -aminobutyric acid. *The Journal of Comparative Neurology*, 426(3), 441–467. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001023\)426:3<441::AID-CNE8>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001023)426:3<441::AID-CNE8>3.0.CO;2-7)
- Kornijcuk, V., Kim, D., Kim, G., & Jeong, D. S. (2020). Simplified calcium signaling cascade for synaptic plasticity. *Neural Networks*, 123, 38–51. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2019.11.022>
- Krettek, J. E., & Price, J. L. (1978). Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *The Journal of Comparative Neurology*, 178(2), 225–253. <https://doi.org/10.1002/cne.901780204>
- Kyriazi, P., Headley, D. B., & Pare, D. (2018). Multi-dimensional Coding by Basolateral Amygdala Neurons. *Neuron*, 99(6), 1315-1328.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.036>
- Lamm, C., Meltzoff, A. N., & Decety, J. (2010). How Do We Empathize with Someone Who Is Not Like Us? A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22(2), 362–376. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21186>

- Lavi, K., Jacobson, G. A., Rosenblum, K., & Lüthi, A. (2018). Encoding of Conditioned Taste Aversion in Cortico-Amygdala Circuits. *Cell Reports*, *24*(2), 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.053>
- LeDoux. (2007). The amygdala. *Current Biology*, *17*(20), R868–R874. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.08.005>
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion Circuits in the Brain. *Ann. Rev. Neurosci.*, *23*, 155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.155>
- Lee, O. K., Lee, C.-J., & Choi, S. (2002). Induction mechanisms for L-LTP at thalamic input synapses to the lateral amygdala: Requirement of mGluR5 activation: *Neuroreport*, *13*(5), 685–691. <https://doi.org/10.1097/00001756-200204160-00030>
- Lehne, F., & Bogdan, S. (2023). Getting cells into shape by calcium-dependent actin cross-linking proteins. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *11*, 1171930. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1171930>
- Li, S., Wang, L., Tie, X., Sohya, K., Lin, X., Kirkwood, A., & Jiang, B. (2017). Brief Novel Visual Experience Fundamentally Changes Synaptic Plasticity in the Mouse Visual Cortex. *The Journal of Neuroscience*, *37*(39), 9353–9360. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0334-17.2017>
- Lin, G., Rennie, M., Adeeko, A., & Scarlata, S. (2024). The role of calcium in neuronal membrane tension and synaptic plasticity. *Biochemical Society Transactions*, *52*(2), 937–945. <https://doi.org/10.1042/BST20231518>
- Lisman, J., Yasuda, R., & Raghavachari, S. (2012). Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*(3), 169–182. <https://doi.org/10.1038/nrn3192>

- Liu, J., Hu, T., Zhang, M.-Q., Xu, C.-Y., Yuan, M.-Y., & Li, R.-X. (2021). Differential efferent projections of GABAergic neurons in the basolateral and central nucleus of amygdala in mice. *Neuroscience Letters*, 745(135621). <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135621>
- Lynch, M. A. (2004). Long-Term Potentiation and Memory. *Physiol Rev*, 84, 50.
- Maffei, A., Haley, M., & Fontanini, A. (2012). Neural processing of gustatory information in insular circuits. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(4), 709–716. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.04.001>
- Magee, J. C., & Johnston, D. (1997). A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science*, 275(5297), 209–213. <https://doi.org/10.1126/science.275.5297.209>
- Mahanty, N. K., & Sah, P. (1998). Calcium-permeable AMPA receptors mediate long-term potentiation in interneurons in the amygdala. *Nature*, 394(6694), 683–687. <https://doi.org/10.1038/29312>
- Makino, H. (2019). Top-down control: A unified principle of cortical learning. *Neuroscience Research*, 141, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.08.004>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). LTP and LTD: An Embarrassment of Riches. *Neuron*, 44(1), 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>
- Malenka, R. C., Kauer, J. A., Perkel, D. J., Mauk, M. D., Kelly, P. T., Nicoll, R. A., & Waxham, M. N. (1989). An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature*, 340(6234), 554–557. <https://doi.org/10.1038/340554a0>

- Malinow, R., Schulman, H., & Tsien, R. W. (1989). Inhibition of Postsynaptic PKC or CaMKII Blocks Induction But Not Expression of LTP. *Science*, 245(4920), 862–866. <https://doi.org/10.1126/science.2549638>
- Maren, S. (2005). Synaptic Mechanisms of Associative Memory in the Amygdala. *Neuron*, 47(6), 783–786. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.08.009>
- Maroun, M. (2006). Stress reverses plasticity in the pathway projecting from the ventromedial prefrontal cortex to the basolateral amygdala. *European Journal of Neuroscience*, 24(10), 2917–2922. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05169.x>
- Martin, K. C., Michael, D., Rose, J. C., Barad, M., Casadio, A., Zhu, H., & Kandel, E. R. (1997). MAP Kinase Translocates into the Nucleus of the Presynaptic Cell and Is Required for Long-Term Facilitation in Aplysia. *Neuron*, 18(6), 899–912. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80330-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80330-X)
- Masseck, O. A. (2018). A Guide to Optogenetic Applications, With Special Focus on Behavioral and In Vivo Electrophysiological Experiments. En *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 28, pp. 263–284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812028-6.00015-X>
- Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G. C. R., & Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*, 429(6993), 761–766. <https://doi.org/10.1038/nature02617>
- Matus, A. (2000). Actin-Based Plasticity in Dendritic Spines. *Science*, 290(5492), 754–758. <https://doi.org/10.1126/science.290.5492.754>

- McCool, B. A. (2021). Ethanol modulation of cortico-basolateral amygdala circuits: Neurophysiology and behavior. *Neuropharmacology*, 197, 108750. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108750>
- McDonald, A. J. (1992). Projection neurons of the basolateral amygdala: A correlative Golgi and retrograde tract tracing study. *Brain Research Bulletin*, 28(2), 179–185. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(92\)90177-Y](https://doi.org/10.1016/0361-9230(92)90177-Y)
- McDonald, A. J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology*, 55(3), 257–332. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(98\)00003-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(98)00003-3)
- McDonald, A. J., Mascagni, F., & Zaric, V. (2012). Subpopulations of somatostatin-immunoreactive non-pyramidal neurons in the amygdala and adjacent external capsule project to the basal forebrain: Evidence for the existence of GABAergic projection neurons in the cortical nuclei and basolateral nuclear complex. *Frontiers in Neural Circuits*, 6. <https://doi.org/10.3389/fncir.2012.00046>
- McGahon, B., Maguire, C., Kelly, Á., & Lynch, M. A. (1999). Activation of p42 mitogen-activated protein kinase by arachidonic acid and trans-1-amino-cyclopentyl-1,3-dicarboxylate impacts on long-term potentiation in the dentate gyrus in the rat: Analysis of age-related changes. *Neuroscience*, 90(4), 1167–1175. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00528-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00528-4)
- McGinnis, M. M., Parrish, B. C., & McCool, B. A. (2020). Withdrawal from chronic ethanol exposure increases postsynaptic glutamate function of insular cortex projections to the rat basolateral amygdala. *Neuropharmacology*, 172, 108129. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108129>

- Metereau, E., & Dreher, J.-C. (2013). Cerebral Correlates of Salient Prediction Error for Different Rewards and Punishments. *Cerebral Cortex*, *23*(2), 477–487. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs037>
- Murakoshi, H., Shin, M. E., Parra-Bueno, P., Szatmari, E. M., Shibata, A. C. E., & Yasuda, R. (2017). Kinetics of Endogenous CaMKII Required for Synaptic Plasticity Revealed by Optogenetic Kinase Inhibitor. *Neuron*, *94*(1), 37-47.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.036>
- Murray, E. A. (2007). The amygdala, reward and emotion. *Trends in Cognitive Sciences*, *11*(11), 489–497. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2007.08.013>
- Nabavi, S., Fox, R., Proulx, C. D., Lin, J. Y., Tsien, R. Y., & Malinow, R. (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature*, *511*(7509), 348–352. <https://doi.org/10.1038/nature13294>
- Namburi, P., Al-Hasani, R., Calhoon, G. G., Bruchas, M. R., & Tye, K. M. (2016). Architectural Representation of Valence in the Limbic System. *Neuropsychopharmacology*, *41*(7), 1697–1715. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.358>
- Namkung, H., Kim, S.-H., & Sawa, A. (2017). The Insula: An Underestimated Brain Area in Clinical Neuroscience, Psychiatry, and Neurology. *Trends in Neurosciences*, *40*(4), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.02.002>
- Naqvi, N. H., Gaznick, N., Tranel, D., & Bechara, A. (2014). The insula: A critical neural substrate for craving and drug seeking under conflict and risk: The insula: craving and drug seeking under conflict and risk. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1316*(1), 53–70. <https://doi.org/10.1111/nyas.12415>

- Naqvi, N. H., Rudrauf, D., Damasio, H., & Bechara, A. (2007). Damage to the Insula Disrupts Addiction to Cigarette Smoking. *Science*, *315*(5811), 531–534. <https://doi.org/10.1126/science.1135926>
- Nicholls, R. E., Alarcon, J. M., Malleret, G., Carroll, R. C., Grody, M., Vronskaya, S., & Kandel, E. R. (2008). Transgenic Mice Lacking NMDAR-Dependent LTD Exhibit Deficits in Behavioral Flexibility. *Neuron*, *58*(1), 104–117. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.039>
- Nicolas, C., Ju, A., Wu, Y., Eldirdiri, H., Delcasso, S., Jacky, D., Supiot, L., Fornari, C., Vérité, A., Masson, M., Rodriguez-Rozada, S., Wiegert, J. S., & Beyeler, A. (2021). *Linking emotional valence and anxiety in a mouse insula-amygdala circuit* [Preprint]. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-964107/v1>
- Nicoll, R. A. (2017). A Brief History of Long-Term Potentiation. *Neuron*, *93*(2), 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.015>
- Nikolenko, V. N., Oganessian, M. V., Rizaeva, N. A., Kudryashova, V. A., Nikitina, A. T., Pavliv, M. P., Shchedrina, M. A., Giller, D. B., Bulygin, K. V., & Sinelnikov, M. Y. (2020). Amygdala: Neuroanatomical and Morphophysiological Features in Terms of Neurological and Neurodegenerative Diseases. *Brain Sciences*, *10*(8), 502. <https://doi.org/10.3390/brainsci10080502>
- Osorio-Gómez, D., Bermúdez-Rattoni, F., & Guzmán-Ramos, K. R. (2021). Cortical neurochemical signaling of gustatory stimuli and their visceral consequences during the acquisition and consolidation of taste aversion memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *181*, 107437. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107437>

- Osorio-Gómez, D., Guzmán-Ramos, K., & Bermúdez-Rattoni, F. (2022). Dopamine activity on the perceptual salience for recognition memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 16*, 963739. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.963739>
- Pape, H.-C., & Pare, D. (2010). Plastic Synaptic Networks of the Amygdala for the Acquisition, Expression, and Extinction of Conditioned Fear. *Physiological Reviews, 90*(2), 419–463. <https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2009>
- Paré, D., Smith, Y., & Paré, J.-F. (1995). Intra-amygdaloid projections of the basolateral and basomedial nuclei in the cat: Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin anterograde tracing at the light and electron microscopic level. *Neuroscience, 69*(2), 567–583. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00272-K](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00272-K)
- Paulus, M. P., & Stewart, J. L. (2014). Interoception and drug addiction. *Neuropharmacology, 76*, 342–350. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.07.002>
- Paxinos, G., & Franklin, K. B. J. (2004). *The mouse brain in stereotaxic coordinates* (compact 2nd ed). Elsevier Academic Press.
- Perumal, M. B., Latimer, B., Xu, L., Stratton, P., Nair, S., & Sah, P. (2021). Microcircuit mechanisms for the generation of sharp-wave ripples in the basolateral amygdala: A role for chandelier interneurons. *Cell Reports, 35*(6), 109106. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109106>
- Pitkänen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N., & Ylinen, A. (2006). Reciprocal Connections between the Amygdala and the Hippocampal Formation, Perirhinal Cortex, and Postrhinal Cortex in Rat: A Review. *Annals of the New York Academy of Sciences, 911*(1), 369–391. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06738.x>

- Pushparaj, A., Kim, A. S., Musiol, M., Trigo, J. M., & Le Foll, B. (2015). Involvement of the rostral agranular insular cortex in nicotine self-administration in rats. *Behavioural Brain Research*, *290*, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.04.039>
- Redondo, R. L., & Morris, R. G. M. (2011). Making memories last: The synaptic tagging and capture hypothesis. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*(1), 17–30. <https://doi.org/10.1038/nrn2963>
- Riener, C. (2019). New Approaches and Debates on Top-Down Perceptual Processing. *Teaching of Psychology*, *46*(3), 267–272. <https://doi.org/10.1177/0098628319853943>
- Rodrigues, S. M., Bauer, E. P., Farb, C. R., Schafe, G. E., & LeDoux, J. E. (2002). The Group I Metabotropic Glutamate Receptor mGluR5 Is Required for Fear Memory Formation and Long-Term Potentiation in the Lateral Amygdala. *The Journal of Neuroscience*, *22*(12), 5219–5229. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-12-05219.2002>
- Rodríguez-Durán, L. F., López-Ibarra, D. L., Herrera-Xithe, G., Bermúdez-Rattoni, F., Osorio-Gómez, D., & Escobar, M. L. (2023). Synergistic photoactivation of VTA-catecholaminergic and BLA-glutamatergic projections induces long-term potentiation in the insular cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, *205*, 107845. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2023.107845>
- Rodríguez-Durán, L. F., Martínez-Moreno, A., & Escobar, M. L. (2017). Bidirectional modulation of taste aversion extinction by insular cortex LTP and LTD. *Neurobiology of Learning and Memory*, *142*, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.12.014>

- Sah, P., Faber, E. S. L., Lopez De Armentia, M., & Power, J. (2003). The Amygdaloid Complex: Anatomy and Physiology. *Physiological Reviews*, *83*(3), 803–834. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2003>
- Smith, D. M., & Torregrossa, M. M. (2021). Valence encoding in the amygdala influences motivated behavior. *Behavioural Brain Research*, *411*, 113370. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113370>
- Snyder, E. M., Philpot, B. D., Huber, K. M., Dong, X., Fallon, J. R., & Bear, M. F. (2001). Internalization of ionotropic glutamate receptors in response to mGluR activation. *Nature Neuroscience*, *4*(11), 1079–1085. <https://doi.org/10.1038/nn746>
- Sokolov, M. V., Rossokhin, A. V., M. Kasyanov, A., Gasparini, S., Berretta, N., Cherubini, E., & Voronin, L. L. (2003). Associative mossy fibre LTP induced by pairing presynaptic stimulation with postsynaptic hyperpolarization of CA3 neurons in rat hippocampal slice. *European Journal of Neuroscience*, *17*(7), 1425–1437. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02563.x>
- Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *93*(24), 13515–13522. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13515>
- Stanton, P. K., Winterer, J., Bailey, C. P., Kyrozis, A., Raginov, I., Laube, G., Veh, R. W., Nguyen, C. Q., & Müller, W. (2003). Long-Term Depression of Presynaptic Release from the Readily Releasable Vesicle Pool Induced by NMDA Receptor-Dependent Retrograde Nitric Oxide. *The Journal of Neuroscience*, *23*(13), 5936–5944. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-13-05936.2003>

- Stehberg, J., Moraga-Amaro, R., & Simon, F. (2011). The role of the insular cortex in taste function. *Neurobiology of Learning and Memory*, *96*(2), 130–135.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.03.005>
- Stevens, C. F., & Wang, Y. (1994). Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity. *Nature*, *371*(6499), 704–707.
<https://doi.org/10.1038/371704a0>
- Sweatt, J. D. (2010). The Basics of Psychological Learning and Memory Theory. En *Mechanisms of Memory* (pp. 3–28). Elsevier Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-012678957-7/50003-7>
- Tang, D. W., Fellows, L. K., Small, D. M., & Dagher, A. (2012). Food and drug cues activate similar brain regions: A meta-analysis of functional MRI studies. *Physiology & Behavior*, *106*(3), 317–324.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.03.009>
- Tsokas, P., Hsieh, C., Flores-Obando, R. E., Bernabo, M., Tcherepanov, A., Hernández, A. I., Thomas, C., Bergold, P. J., Cottrell, J. E., Kremerskothen, J., Shouval, H. Z., Nader, K., Fenton, A. A., & Sacktor, T. C. (2024). KIBRA anchoring the action of PKM ζ maintains the persistence of memory. *Science Advances*, *10*(26), ead10030.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.adl0030>
- Tully, K., Li, Y., Tsvetkov, E., & Bolshakov, V. Y. (2007). Norepinephrine enables the induction of associative long-term potentiation at thalamo-amygdala synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(35), 14146–14150.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0704621104>
- Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S.-Y., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., Thompson, K. R., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C., & Deisseroth, K. (2011). Amygdala circuitry

- mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature*, 471(7338), 358–362. <https://doi.org/10.1038/nature09820>
- Vincis, R., & Fontanini, A. (2016). Associative learning changes cross-modal representations in the gustatory cortex. *eLife*, 5, e16420. <https://doi.org/10.7554/eLife.16420>
- Volkow, N. D., Michaelides, M., & Baler, R. (2019). The Neuroscience of Drug Reward and Addiction. *Physiological Reviews*, 99(4), 2115–2140. <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2018>
- Walker, D. L., & Davis, M. (2000). Involvement of NMDA receptors within the amygdala in short- versus long-term memory for fear conditioning as assessed with fear-potentiated startle. *Behavioral Neuroscience*, 114(6), 1019–1033.
- Wang, L., Gillis-Smith, S., Peng, Y., Zhang, J., Chen, X., Salzman, C. D., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2018). The coding of valence and identity in the mammalian taste system. *Nature*, 558(7708), 127–131. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0165-4>
- Yu, S. Y., Wu, D. C., Liu, L., Ge, Y., & Wang, Y. T. (2008). Role of AMPA receptor trafficking in NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in the rat lateral amygdala. *Journal of Neurochemistry*, 106(2), 889–899. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05461.x>