



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**TESIS DE LICENCIATURA**

**INFLUENCIA DEL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES**

**(CAS) SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA POTENCIACIÓN A LARGO PLAZO**

**(LTP) EN LA CORTEZA INSULAR *IN VIVO*.**

**ALUMNO: LUIS FRANCISCO RODRÍGUEZ DURÁN**

**TUTORA: DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ**

**REVISOR DE TESIS: DR. DAVID N. VELÁZQUEZ MARTÍNEZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**¿Saben por qué los buenos siempre ganan?...**  
**Porque los que ganan escriben la historia.**

## **Agradecimientos y Dedicatorias.**

Esta tesis (y en general todas las tesis de licenciatura) representa el producto del tiempo dinero y esfuerzo invertidos en la educación desde la primaria hasta el momento de la titulación. 60 hojas no pueden reflejar los sabores, saberes, saberes hacer, relaciones y experiencias en general que se recolectan a través de 20 años de estar estudiando (y lo que falta). Lo que si refleja es el cambio en la persona en relación a su capacidad de llevar a cabo un trabajo mucho mas serio y comprometido que tiene que ver con lo que (esperemos) se va a dedicar el resto de su vida. Agradezco en este trabajo a ciertas personas que son importantes en mi vida tanto académica como personal. Agradezco a mis dos padres Poncho y Martha por aquello de criarme y todo eso. A la Doctora Martha Lilia Escobar Rodríguez por esto de la pasión por la investigación. A mis “hermanas” Andrea, Diana, Laura y Minerva, sin olvidar a Olga y (por que no) a Yazmin por la ayuda y compañía brindada estos años en la neurociencia. A mis 5 hermanos “de adeveras”, por eso de la hermandad y compañía tantos años. A mis amigos de la adolescencia El Omar el Abraham y el Armando por la fe. A todos los “Smalins” porque cada vez que me acuerdo, me río. A mis amigos de la tarde por aquellas tardes hablando de Psicología y demás temas de interés general. A mis amigos de la tarde que se cambiaron a la mañana, aun que no nos vemos nos llevamos bien cuando sucede. A mis maestros de la Facultad, principalmente a Margarita Lagarde, por mostrarme que existe algo mas que la Psicología que te enseñan y a Blanquita reguero por la ayuda, la experiencia y por mostrarme que existe algo mas allá que la Psicofisiología. A todos los Manueles y Emilianos por la paciencia y buenos ratos. Como dice la canción a los que me faltaron lo saben, lo saben. Y por ultimo, no me da pena agradecerme a mi mismo, por no dejarme llevar.

## ÍNDICE.

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN.</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>ANTECEDENTES.</b>	<b>3</b>
	<b>2.1. Potenciación a largo plazo.</b>	<b>3</b>
	2.1.1. Características de la potenciación a largo plazo.	5
	2.1.2. Mecanismos de la potenciación a largo plazo.	6
	2.1.3. Potenciación a largo plazo en la neocorteza.	9
	<b>2.2. El condicionamiento aversivo a los sabores.</b>	<b>9</b>
	<b>2.3. La corteza insular y la vía gustativa.</b>	<b>12</b>
	<b>2.4. Potenciación a largo plazo y conducta.</b>	<b>15</b>
	<b>2.5. Metaplasticidad.</b>	<b>18</b>
	2.5.1. Modelo Bienenstock-Cooper-Munro (BCM).	20
	2.5.2. Plasticidad homeostática.	21
	2.5.3. Metaplasticidad y conducta en la neocorteza.	23
<b>3.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.</b>	<b>26</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS.</b>	<b>27</b>
<b>5.</b>	<b>PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.</b>	<b>27</b>
	<b>5.1. Sujetos.</b>	<b>27</b>
	<b>5.2. Grupos experimentales.</b>	<b>27</b>
	<b>5.3. CAS.</b>	<b>28</b>
	<b>5.4. Electrofisiología.</b>	<b>30</b>
	<b>5.5. Histoquímica de Nissl.</b>	<b>31</b>
	<b>5.6. Análisis de datos.</b>	<b>32</b>
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS.</b>	<b>32</b>
	<b>6.1. Conductuales.</b>	<b>32</b>
	<b>6.2. Electrofisiológicos.</b>	<b>33</b>
	<b>6.3. Histológicos.</b>	<b>41</b>
<b>7.</b>	<b>DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.</b>	<b>42</b>
	<b>8. REFERENCIAS.</b>	

## RESUMEN

Desde la perspectiva de la neurociencia cognitiva, podemos definir memoria como el proceso mediante el cual un organismo almacena información y una cuestión fundamental para dicha disciplina constituye la investigación en torno al cómo se almacena la información en el sistema nervioso (SN). La potenciación a largo plazo o LTP se puede definir como “el incremento prolongado de la eficiencia sináptica debido a la estimulación repetitiva de las fibras aferentes a un área del sistema nervioso” y es un fenómeno que fue descubierto en los años setenta que ha ayudado a entender como funcionan los cambios dependientes de la actividad en el SN, es decir, cambios plásticos. Se ha reportado que la LTP se presenta en diversas áreas del SN, como el hipocampo y la neocorteza. Entre las zonas neocorticales que se ha visto presentan este fenómeno se encuentra la corteza insular (CI), específicamente en la vía que va del núcleo basolateral amigdalino (Bla) a la CI agranular en ratas adultas *in vivo*. La CI es considerada el relevo final de la vía gustativa, y se ha visto involucrada en diferentes tareas de aprendizaje aversivo como el condicionamiento aversivo a los sabores (CAS). Se ha reportado que existe una coincidencia de mecanismos entre estos dos fenómenos que involucran a la CI: la LTP en la CI y el CAS. Por otro lado, en una serie de experimentos recientes, se observó que en áreas neocorticales (visual, olfativa y motora), la conducta produce cambios en la posibilidad de inducir subsecuentes cambios plásticos, es decir, metaplasticidad. Asimismo, recientes investigaciones demuestran que la inducción de la LTP en la proyección Bla-CI previa al entrenamiento del CAS aumenta la retención de esta tarea, lo cual nos muestra que la ejecución de una tarea conductual es modificada debido a la previa inducción de plasticidad sináptica. El objetivo de la presente investigación fue analizar la influencia del entrenamiento en el CAS sobre la subsecuente inducción de la LTP en la proyección que va del núcleo basolateral amigdalino a la corteza insular de ratas adultas *in vivo*. Asimismo, analizar las diferentes ventanas temporales entre el CAS y la LTP con el fin de estudiar la permanencia del fenómeno. Para la presente investigación se utilizaron 42 ratas Wistar con un peso de entre 350 y 380g. Estas fueron divididas en los siguientes grupos experimentales: Grupos CAS+LTP, los cuales fueron entrenados en el CAS normalmente 48, 72, 96 y 120 horas antes de la fase electrofisiológica; grupos pseudoCAS+LTP, los cuales fueron entrenados en el CAS 48, 72, 96 y 120 horas antes de la fase electrofisiológica, pero en ausencia del estímulo aversivo, por lo que en substitución del cloruro de litio se les administró PBS. Un grupo LTP fue introducido directamente a la fase electrofisiológica. Todos los animales fueron sometidos a cirugía estereotáxica con el fin de registrar los potenciales postsinápticos excitatorios (PPSEs) en la proyección Bla-CI y, posteriormente, se aplicaron trenes de alta frecuencia para producir la LTP en la CI (10 trenes, 100Hz, 20s intertren). Los resultados muestran que el CAS previene la subsecuente inducción de plasticidad sináptica en la vía Bla-CI, y que el efecto producido por el CAS sobre la LTP en la CI se mantiene al menos por 120 horas. Estos resultados nos muestran que el CAS produce un efecto metaplástico sobre la LTP que es persistente en el tiempo, apoyando de esta forma a la creencia actual de que los mecanismos responsables de los cambios plásticos dependientes de la conducta son similares a los encargados de producir LTP.

## 1. INTRODUCCIÓN.

En los últimos cincuenta años, la comunidad científica observó el surgimiento de la llamada “neurociencia cognitiva” a partir de la confluencia de dos disciplinas: la psicología, particularmente en lo que se refiere al análisis de la conducta y la cognición, y la neurobiología, la cual se dedica a entender la estructura y función de los circuitos neuronales en el sistema nervioso. La neurociencia cognitiva es una aproximación multidisciplinaria al estudio del sistema nervioso. Desde dicha perspectiva se sostiene que los procesos cognitivos son el resultado de la comunicación neuronal al interior del sistema nervioso (Milner et al., 1998; Bear et al., 2001).

La memoria se ha estudiado desde diferentes enfoques y también se ha clasificado de diferentes maneras. Según Baddeley este proceso se puede dividir en: adquisición, consolidación y evocación, de acuerdo con las etapas de dicho proceso. También por su duración, Atkinson y Shiffrin la dividieron en corto y largo plazo, mientras que por el tipo de información que se almacena, Tulving y Squire propusieron que la memoria se puede dividir en declarativa o explícita (memoria de hechos y eventos) y no declarativa o implícita (memoria de procedimiento) (Milner et al., 1998; Bear et al., 2001; Riegler, 2005).

Desde la perspectiva de la neurociencia cognitiva, el aprendizaje se puede definir como el proceso mediante el cual un organismo vivo adquiere información y la memoria como el proceso que permite almacenar esta información. Parte de la investigación en torno a la memoria se ha centrado en dar respuesta a dos cuestiones que se pueden considerar como claves en el estudio de este proceso: ¿Dónde se almacena la información? y ¿Cómo se almacena la información? La primera cuestión se refiere a los sistemas que se encargan de almacenar los diferentes tipos de memoria. Para dar respuesta a ¿dónde se almacena la información? se han utilizado métodos como lesiones específicas en ciertas áreas del sistema nervioso así como estimulación directa de ciertas zonas cerebrales. Actualmente, la investigación en este rubro nos ha acercado al conocimiento de las áreas que están involucradas en los tipos de memoria que existen. La segunda cuestión se refiere a la forma en la que se

almacena la información en el sistema nervioso. Para dar respuesta a esta pregunta se han utilizado diversos métodos como la biología molecular y la electrofisiología, que han ayudado a dilucidar parte de los mecanismos, tanto biofísicos, bioquímicos, sistémicos y conductuales, involucrados en el proceso de almacenamiento de la información (Milner et al., 1998).



## 2. ANTECEDENTES

En 1894 Santiago Ramón y Cajal, propuso que la memoria era almacenada a través de cambios morfológicos y funcionales de la comunicación neuronal. Desde la génesis de las ideas de Cajal, surge una pregunta que es clave para la investigación referente tanto a la memoria como a los sistemas neuronales: ¿la memoria involucra cambios en la eficiencia sináptica (es decir, cambios en la capacidad que tiene una neurona para responder ante la estimulación)? Con el fin de responder a ésta y otras cuestiones, los neurocientíficos han realizado numerosas investigaciones tendientes a estudiar los cambios sinápticos en el contexto del almacenamiento de la información, profundizando en el conocimiento de las moléculas que intervienen en este proceso y caracterizando la naturaleza del fenómeno, y de ésta forma, tratando de dar respuesta al cómo se almacena la información (Milner et al., 1998; Bear et al., 2001).

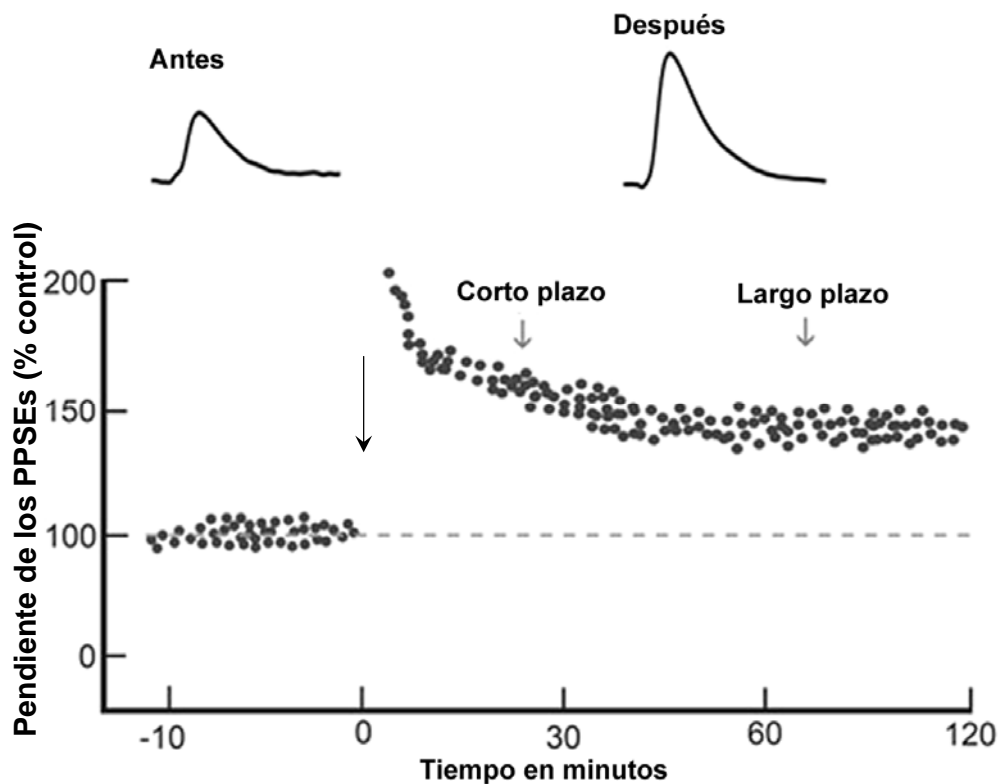
En los años setenta se describió un fenómeno, el cual ha ayudado a vislumbrar la naturaleza de los procesos mnémicos, éste es conocido como potenciación a largo plazo o LTP, por sus siglas en inglés (Milner et al., 1998).

### 2.1. Potenciación a Largo Plazo.

En 1949 Donald Hebb postuló que “cuando el axón de una célula A esta suficientemente cerca para excitar una célula B y repetida o persistentemente toma parte de su activación, algún proceso de crecimiento o cambio metabólico tiene lugar en una o en las dos células, de modo que la eficiencia de A para activar a B se incrementa”. Desde este punto de vista, la memoria involucra una serie de alteraciones sinápticas que están distribuidas en el cerebro, y se refleja en la capacidad de las neuronas para modular las respuestas evocadas por un estímulo y para reactivar una respuesta en ausencia del estímulo que lo originó (Bear et al. 2001, Eichenbaum, 1997). La LTP es un fenómeno que ha ayudado a la investigación y comprobación de estas ideas.

En 1973 Bliss y Lømo encontraron que trenes breves de alta frecuencia aplicados a las aferentes excitatorias del hipocampo de los conejos, en la

proyección que va de la vía perforante al giro dentado, causaban un incremento en la fortaleza de las conexiones sinápticas (figura 1) (Bliss y Lømo, 1973).



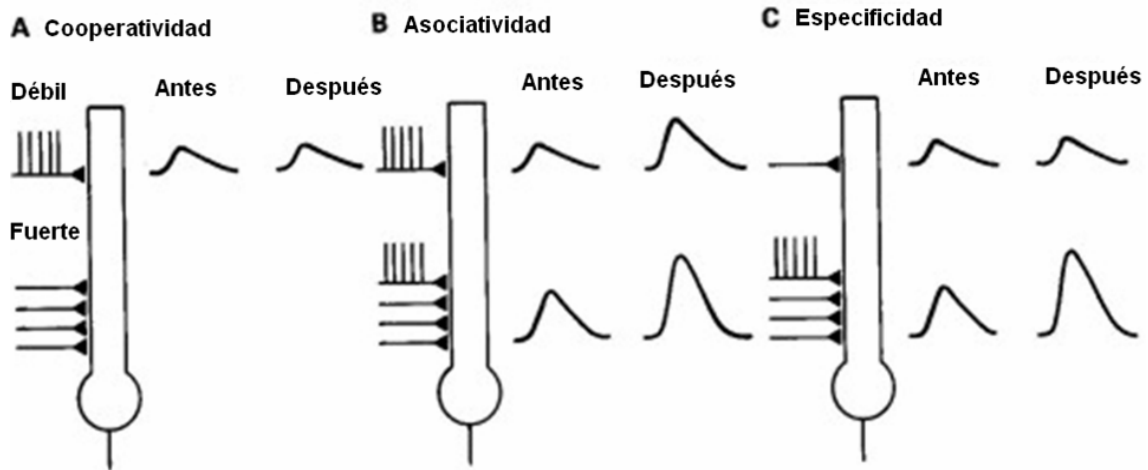
**Figura 1. Ejemplo de potenciación a largo plazo.** La grafica muestra la pendiente de los potenciales post-sinápticos excitatorios (PPSE) del área CA1 hipocámpal antes y después de la inducción de trenes de alta frecuencia (flecha) en el CA3. Los trazos de arriba muestran un incremento en la amplitud de los PPSEs después de la inducción de los trenes.

Actualmente se define a la LTP como “el incremento prolongado de la eficiencia sináptica debido a un patrón de estimulación específico aplicado a las fibras aferentes de un área determinada del sistema nervioso”. Por otro lado, existe otro fenómeno plástico muy relacionado con la LTP, la depresión a largo plazo ó LTD, la cual se define como “el decremento prolongado de la eficiencia sináptica debido a un patrón de estimulación específico aplicado a las fibras aferentes de un área determinada del sistema nervioso”. Actualmente se considera que el postulado de Hebb se ve representado en ambos fenómenos (Bear et al., 2001).

Hemos mencionado que la LTP fue reportada en el hipocampo de conejos por Bliss y Lømo hacia 1973, desde entonces se ha encontrado que este fenómeno no es particular de una vía ni tampoco de una sola área del sistema nervioso central, por ejemplo, en el hipocampo además del patrón perforante (Bliss y Lømo, 1973; Doyere et al., 1997; Roberts et al., 1997), el fenómeno se ha reportado en las colaterales de Schaffer (Debanne et al., 1996; Wang y Steltzer, 1996; Abraham y Hugett, 1997) y en las fibras musgosas (Derrik et al., 1991; Nicoll y Malenka, 1995; Escobar et al., 1997). Entre las áreas no hipocampales donde se ha reportado el fenómeno de la LTP se encuentran las siguientes vías: tálamo auditivo-amígdala (Clugnet et al., 1990), fibras paralelas-neuronas de purkinje en el cerebelo (Losi et al. 2002) y corteza cerebral-estriado (Calabresi et al., 2000). Asimismo se ha inducido LTP en varias regiones de la neocorteza a las que haremos referencia en líneas posteriores (Artola y Singer, 1990; Tsumoto, 1992; Bear y Kirkwood, 1993; Escobar et al., 1998a).

### **2.1.1. Características de la potenciación a largo plazo.**

Además de su persistencia en el tiempo, la LTP posee ciertas características que reflejan la capacidad plástica de las neuronas y su relación con la memoria. Estas características son la cooperatividad, asociatividad y especificidad (figura 2) (Bailey et al., 2000). La cooperatividad (figura 2a) se manifiesta como un fuerte requerimiento en la activación simultánea de las fibras presinápticas, de tal forma que se logre el estímulo necesario para activar la LTP, la asociatividad (figura 2b) se observa cuando la asociación de una vía sináptica fuerte es capaz de facilitar una vía débil en la misma célula. Finalmente, la especificidad (figura 2c) se refiere a que solamente aquellas fibras que fueron activadas por la estimulación de alta frecuencia van a presentar modificaciones en la respuesta sináptica (Malenka y Nicoll; 2003).



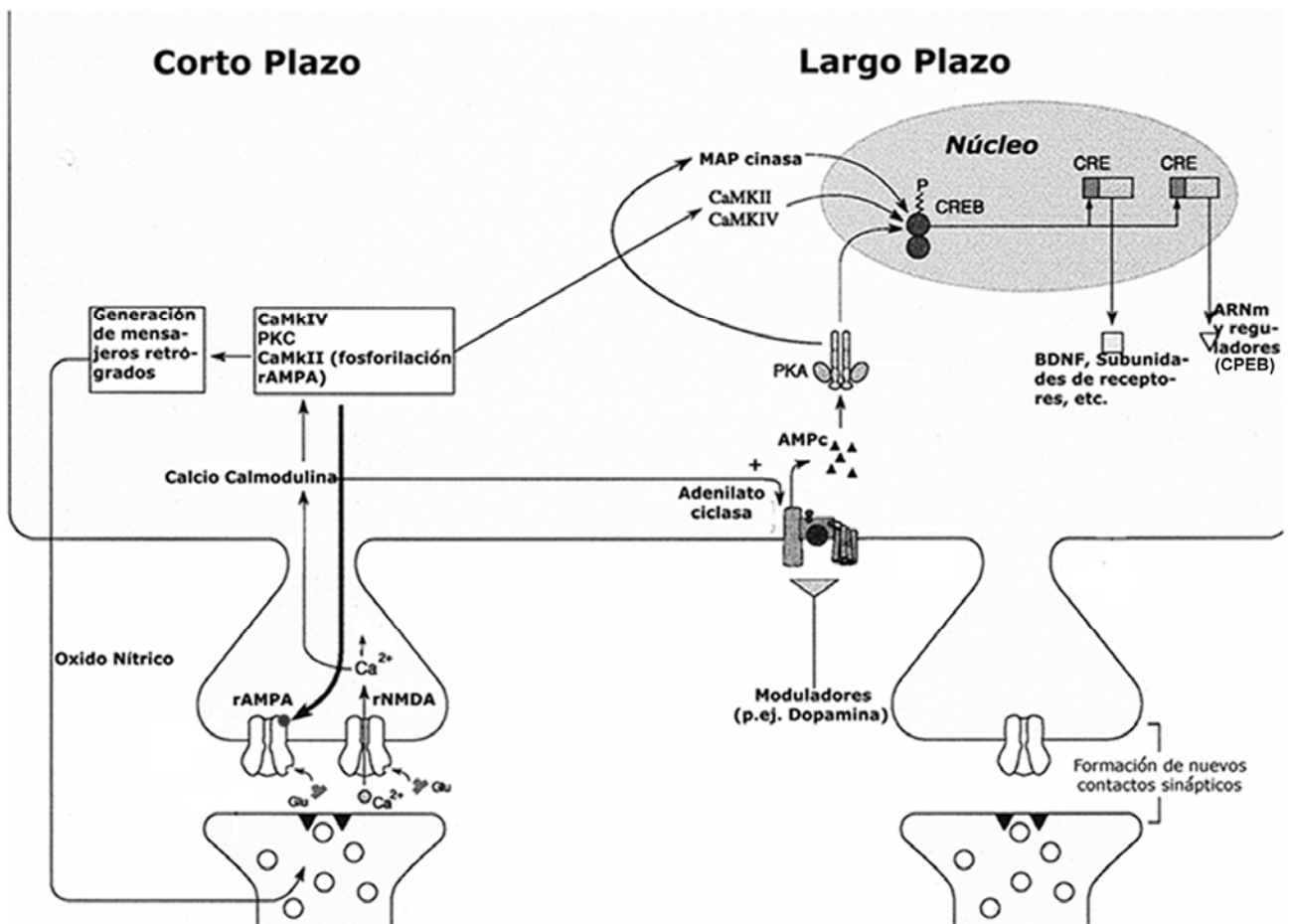
**Figura 2. Características de la potenciación a largo plazo.** Esquema representativo de las características de la LTP. (Modificado de Feldman y Quenzer, 1984).

### 2.1.2. Mecanismos de la potenciación a largo plazo.

Como hemos mencionado, el fenómeno de la LTP ha sido encontrado en diferentes áreas del sistema nervioso. Sin embargo, actualmente se ha observado que los mecanismos moleculares que presenta la LTP en estas distintas áreas son muy similares (figura 3). Dichos mecanismos han sido ampliamente estudiados en las vías colaterales de Schaffer en la región CA1 hipocampal. El neurotransmisor excitatorio glutamato se ha visto involucrado en el fenómeno de la LTP inducida en el hipocampo (Kennedy y Marder 1992). Experimentos donde se utilizaron antagonistas para el receptor ionotrópico glutamatérgico de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), muestran que la inhibición de este receptor evita la inducción de la LTP (Collingridge et al., 1983; Harris et al., 1984). Durante la actividad normal de las neuronas, el glutamato activa a los receptores AMPA (ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico), dando lugar a la entrada de sodio al interior de la célula, contribuyendo de esta forma a la depolarización de la neurona postsináptica. Mientras tanto los receptores NMDA (rNMDA) se mantienen inactivos ya que presentan un bloqueo de magnesio que impide el flujo iónico a través de ellos, a pesar de tener sitios de interacción con el glutamato; para que se activen estos canales es necesario que la depolarización elimine este bloqueo, característica que lo hace tan importante en la plasticidad sináptica (Kandel y Hawkins, 1992). Los rNMDA tienen además la característica de que al ser activados no solo

permiten la entrada de iones de sodio al interior de la célula, sino que son permeables al calcio (McDermott et al., 1986; Jahr y Stevens, 1987; Ascher y Nowak, 1988). Además de la entrada de calcio a través de los rNMDA, éste se introduce a la célula por medio de canales de calcio dependientes de voltaje, los cuales se abren en el momento en el que se da la depolarización de la membrana. La entrada de calcio es el iniciador de toda una cadena de señalización donde intervienen las proteínas cinasas, capaces de transferir grupos fosfato (fosforilar) a sus respectivos sustratos. Un ejemplo es la calcio-calmodulina cinasa II (CaMKII); se ha reportado que su actividad se relaciona con un aumento en la fosforilación de los receptores AMPA y, por tanto, un incremento en la eficiencia sináptica (Kennedy y Marder 1992; Malenka et al., 1989). Estudios muestran que la calmodulina causa la activación de la adenilato ciclasa, la cual produce monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) a partir de trifosfato de adenosina (ATP) (Kennedy y Marder 1992). La producción de AMPc puede ser modulada mediante la activación de neurotransmisores como la dopamina (Milner et al. 1998). Durante la LTP, el AMPc producido activa a la proteína cinasa A (PKA). Al activarse la PKA, tiene lugar la disociación de sus subunidades catalítica y reguladora, permitiendo la translocación hacia el núcleo (Hagiwara et al., 1993). Una vez dentro del núcleo, activa factores de transcripción como CREB (elemento responsivo al AMP cíclico) que participan en la modulación de la transcripción de una variedad de genes involucrados en la activación y el mantenimiento de los cambios en la eficiencia sináptica (Wells y Fallon, 2000). Se ha demostrado que el mantenimiento de la LTP durante períodos mayores a una hora es dependiente de síntesis proteica. Si se bloquea tanto la transcripción de ARN mensajero (ARNm) como la traducción de nuevas proteínas, la potenciación inducida decae después de una hora, sin embargo si el bloqueo se realiza una o más horas después de la inducción de potenciación, ésta se mantiene normalmente, lo cual nos da evidencia de la participación de la síntesis proteica en la permanencia de la LTP (Nguyen et al., 1994). Es pertinente mencionar que la síntesis de proteínas no solo se lleva a cabo en los ribosomas que se encuentran cerca del núcleo en el retículo endoplásmico rugoso, sino que además tiene lugar en las dendritas que cuentan con la maquinaria necesaria para la traducción de nuevas proteínas (Wells y Fallon, 2000; Sutton et al.,

2004). Estas nuevas proteínas mantienen en un nivel óptimo la maquinaria necesaria para sostener los cambios en la eficiencia sináptica, así como promueven cambios morfológicos en las espinas dendríticas (Engert y Bonhoeffer, 1999; Toni et al., 1999). Hasta ahora solo se han mencionado los cambios relacionados con la parte postsináptica de la LTP, pero es importante tomar en cuenta que existe un componente presináptico que actúa en la potenciación a largo plazo. Estos cambios involucran aumento en la probabilidad de liberación del neurotransmisor e incremento en el reciclaje del mismo. Asimismo, estos mecanismos son atribuidos por un lado a mensajeros retrógrados (que van de la post a la pre-sinapsis) como el óxido nítrico y a la activación de receptores de tirosina cinasa, los cuales son activados por medio de las neurotrofinas (Bekkers y Stevens, 1990; Stanton et al., 2005).



**Figura 3. Mecanismos moleculares de la potenciación a largo plazo.** En este esquema se muestran las principales vías de señalización que están involucradas con la LTP. (Modificado de Milner et al., 1998).

Esta serie de mecanismos dan como resultado que los cambios tanto morfológicos como en la eficiencia sináptica dependientes de la estimulación

de alta frecuencia tengan una duración desde horas hasta meses (Abraham y Williams, 2003) y, actualmente, se considera que los mecanismos que rigen a la potenciación a largo plazo, operan tanto para las diferentes zonas del hipocampo como para otras áreas del sistema nervioso central, como por ejemplo, la neocorteza.

#### **2.1.4. Potenciación a largo plazo en la neocorteza**

La LTP, como hemos visto, fue inicialmente descrita en el hipocampo. En la región del sistema nervioso central conocida como neocorteza, los trabajos encaminados al estudio de la LTP han enfrentado una complejidad mayor, esto ha originado que en una cantidad significativa de estudios se apliquen protocolos para la inducción de la LTP en la neocorteza muy diferentes a los utilizados en el hipocampo. Por ejemplo, en el caso de la corteza visual de gato parece existir una relación muy estrecha entre la edad y la capacidad de inducir LTP (Bear y Kirkwood, 1993; Kirkwood et al. 1995). También es necesario ampliar los rangos de frecuencia y el número de estimulaciones tetánicas. Entre las áreas neocorticales que se ha reportado presentan el fenómeno de potenciación a largo plazo se encuentran la corteza primaria visual del gato (Komatsu et al., 1988) y rata (Artola y Singer, 1990), la corteza somatosensorial en gato (Lee et al., 1991), la corteza prefrontal en rata (Hirsch y Krepel, 1990), la corteza somatosensorial y motora en rata (Rioult-Pedotti et al., 2000), la corteza entorrinal en ratas (Quinlan et al. 2004) y en la corteza insular, específicamente en la vía que va del núcleo basolateral de la amígdala a la zona agranular de la corteza insular en la neocorteza, vía involucrada con la tarea conductual del condicionamiento aversivo a los sabores (CAS) (Escobar et al., 1998a; Jones et al., 1999).

#### **2.2. El Condicionamiento Aversivo a los Sabores.**

La supervivencia de un organismo esta basada entre otras cosas en la capacidad de aprender y recordar que un alimento ingerido fue seguido de malestar, anticipando de esta forma el potencial dañino de cualquier alimento que tenga atributos similares y evitando su consumo. John García describió por

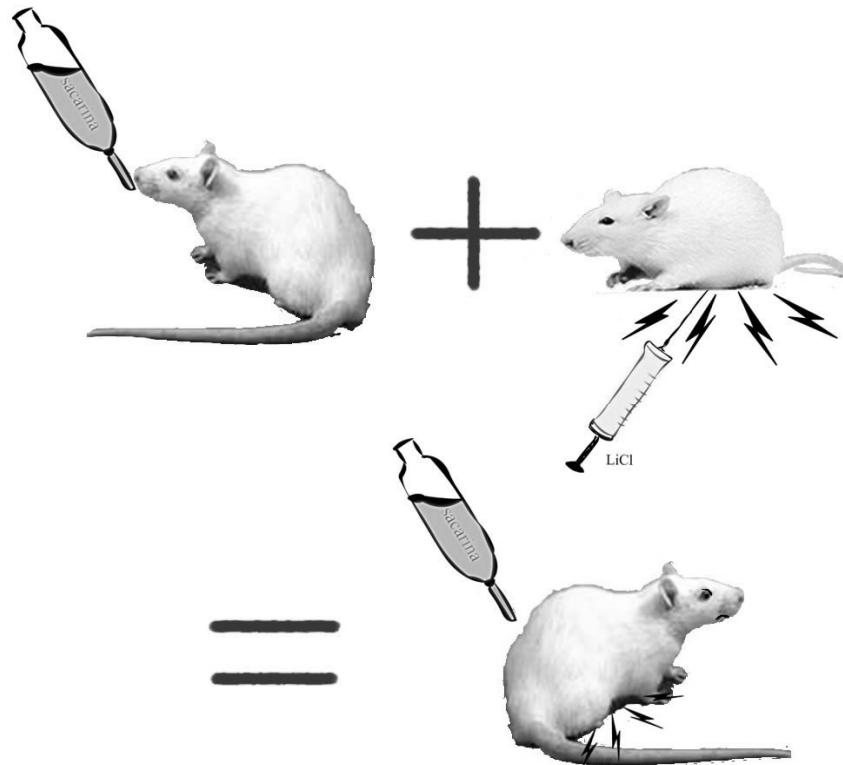
primera vez que las ratas desarrollan aversión a soluciones con sabor dulce cuando estas son seguidas por la aplicación de rayos gamma (García et al., 1955). Más tarde, el estímulo aversivo utilizado fue el cloruro de litio (LiCl). En este sentido, García y Koellin en 1966 demostraron que una solución con sabor se asocia más fácilmente a la inducción de náusea que a la aplicación de choques eléctricos en las patas, lo cual nos muestra que en este condicionamiento, donde el estímulo condicionado es el sabor, es importante que el estímulo aversivo sea de tipo visceral (García y Koellin, 1966). A esta conducta de rechazo basada en el aprendizaje se le llamó condicionamiento aversivo a los sabores o CAS (figura 4). El CAS es un tipo de condicionamiento, donde el sabor sirve como estímulo condicionado y el malestar gástrico como estímulo incondicionado, de modo que un estímulo gustativo adquiere la capacidad de inducir una respuesta condicionada. Los animales pueden aprender el CAS si la solución con sabor es ingerida espontáneamente, pero también presentan el aprendizaje de la tarea cuando el estímulo aversivo es inyectado vía intraperitoneal o intravenosa (Bures y Buresova, 1989; Bradley y Mistretta, 1971). A continuación se presentaran los principios generales del CAS.

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

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

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



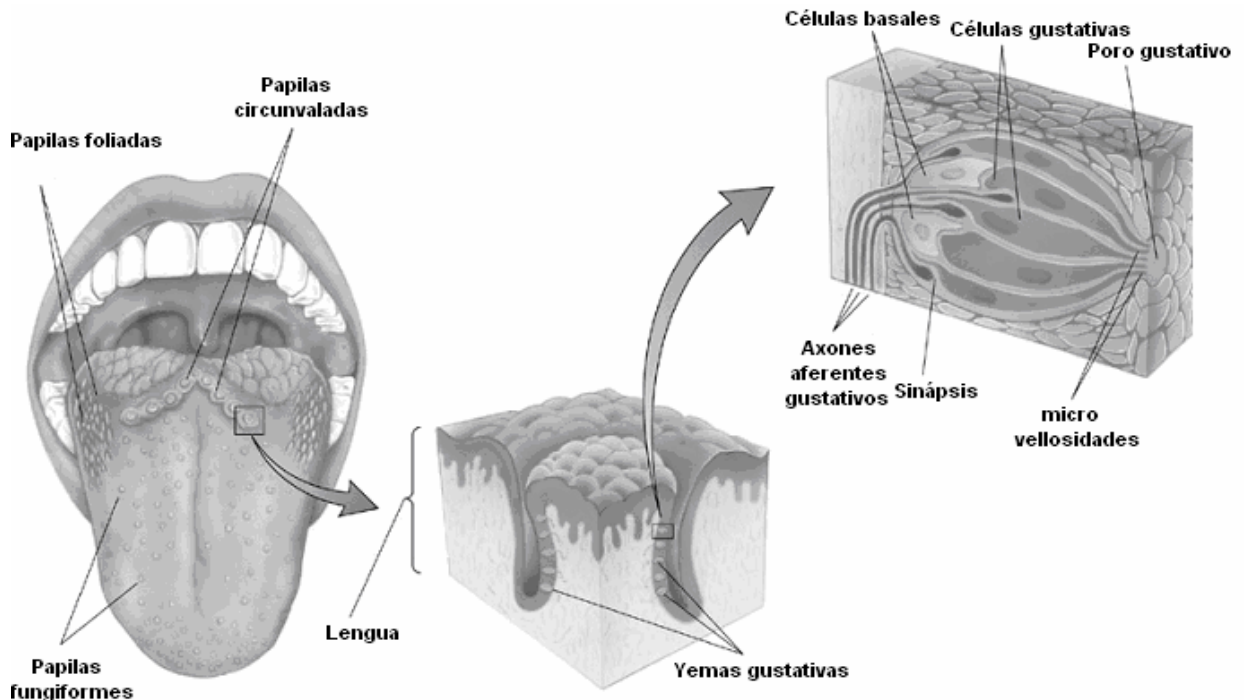


**Figura 4. Condicionamiento aversivo a los sabores.** Cuando un sabor novedoso es asociado con un malestar gástrico (inyección de LiCl) da como resultado que en las siguientes presentaciones del sabor, éste evoque un malestar gástrico. Esto causa que el animal muestre aversión a dicho sabor, evitando su consumo.

Numerosos experimentos han demostrado que lesiones bilaterales de la corteza insular antes o después de la adquisición del CAS deterioran el aprendizaje o la evocación (McGowan et al., 1972; Bermúdez-Rattoni y Yamamoto, 1998), sin embargo no parece afectar la percepción del sabor, ya que los animales con lesión en la corteza insular pueden discriminar entre diferentes concentraciones de sacarosa y NaCl (Lasiter et al., 1985). Estudios electrofisiológicos mediante estimulación gustativa y evocación de señales de la lengua a la corteza gustativa sugieren que los estímulos gustativos están confinados al área agranular de la corteza insular (Travens, 1993). Esta zona se ha visto involucrada también con otras tareas de aprendizaje de tipo aversivo (Dunn y Everitt, 1988; Escobar et al., 1989; Bermúdez-Rattoni y McGaugh, 1991) como la prevención pasiva o el laberinto de agua de Morris.

### 2.3. La corteza insular y la vía gustativa.

La corteza insular agranular es el relevo final de la vía gustativa. Los vertebrados detectamos los sabores por medio de la activación de células receptoras al gusto las cuales responden a moléculas o iones que están disueltos en la saliva, es decir, son quimiorreceptores. Estas células se encuentran agrupadas junto con células basales y de soporte formando las yemas gustativas (figura 5). Las yemas gustativas son consideradas los órganos sensoriales del sentido del gusto. Tanto en el humano como en la rata, la ubicación de las yemas gustativas dentro de la cavidad oral se observa en pequeñas protuberancias del epitelio de la lengua denominadas papilas. Por su forma se pueden distinguir tres tipos de papilas gustativas: circunvaladas, foliadas y fungiformes, las cuales están distribuidas en la lengua. Es relevante mencionar que tanto el paladar como la faringe, epiglotis y parte superior del esófago presentan yemas gustativas pero solo las yemas que se encuentran en la lengua están agrupadas en papilas (Bear et al 2001).

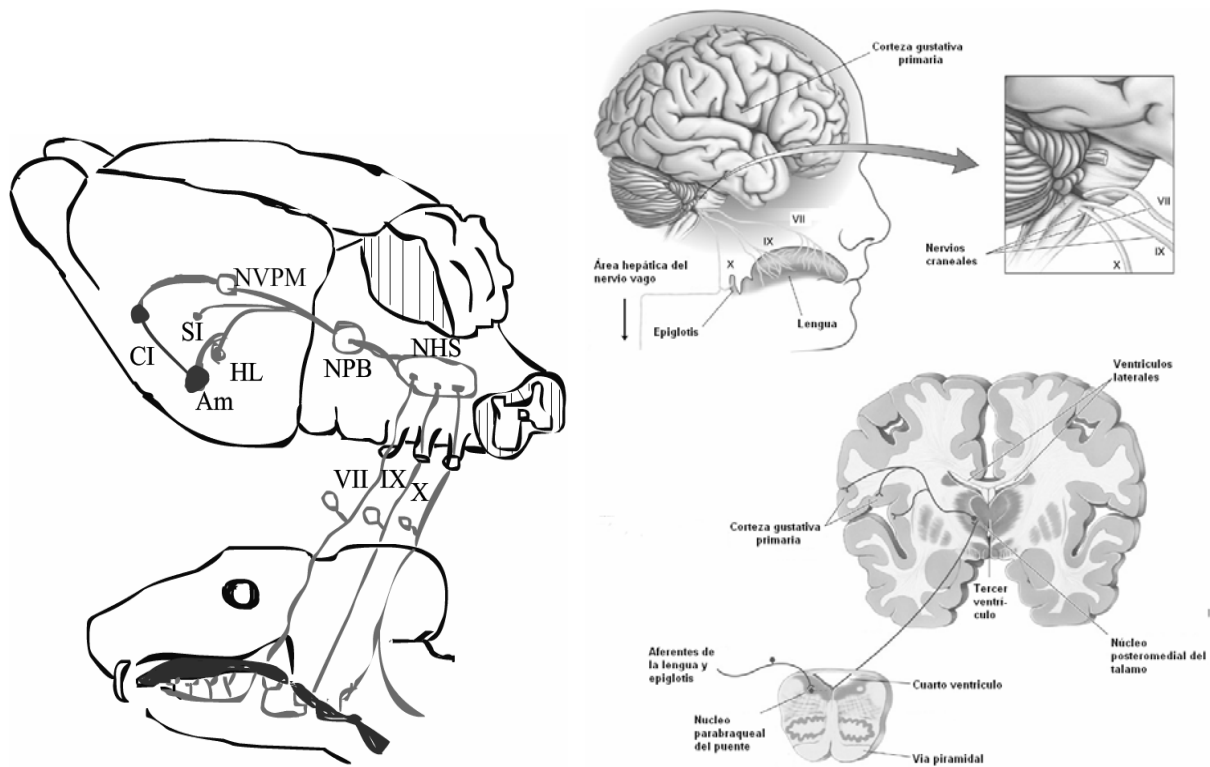


**Figura 5. La lengua, las papilas y las yemas gustativas.** Imagen que muestra la ubicación de las papilas gustativas en la lengua, las yemas gustativas dentro de las papilas y las células que forman las yemas gustativas (modificado de Bear et al., 2001).

Los pares craneales VII (facial), IX (glossofaríngeo), y X (vago) llevan información de las yemas gustativas (figura 6). El nervio facial lleva información de las papilas fungiformes en la parte posterior de la lengua y de las yemas gustativas localizadas en el paladar y en el conducto nasoincisor. El nervio glossofaríngeo lleva información de las papilas foliadas y circunvaladas en la parte posterior de la lengua, mientras que el nervio vago lleva información de las yemas gustativas de la epiglotis laringe y esófago. Por otra parte, el nervio del trigémino inerva la periferia de las yemas gustativas y transmite información somatosensorial, textura y temperatura de los alimentos (Reutter y Witt, 1993). Los tres nervios, facial, glossofaríngeo y vago, hacen sinapsis en el núcleo del haz solitario. De aquí en adelante las diferencias entre el sistema gustativo de los humanos y las ratas se hacen evidentes. En la rata, el segundo relevo de la vía gustativa se encuentra en el núcleo parabraqueal del puente, en lo que se ha denominado como área gustativa del puente (Norgren y Leonard, 1971). Una vez ahí se reconocen dos rutas: unas aferencias se dirigen a estructuras ventrales del cerebro basal como la amígdala, la zona ventral del hipocampo, y la sustancia innominada mientras que una segunda ruta se dirige hacia el complejo ventrobasal del tálamo, el cual se comunica con la corteza insular agranular (Travers, 1993). En el humano las fibras eferentes provenientes del núcleo del tracto solitario se proyectan rostralmente hacia el núcleo parabraqueal del puente, pero no hacen sinapsis hasta el núcleo ventroposteromedial en su división parvocelular (Norgren y Leonard, 1973), que a su vez manda sus eferencias a la ínsula anterior y al operculum frontal, por lo cual estas dos zonas son consideradas como la corteza gustativa primaria en los humanos (Pritchard et al., 1986; Kinomura et al., 1994).

Es importante señalar que el núcleo del tracto solitario recibe aferencias que son originarias del área hepática del vago así como señales del área postrema a través del torrente sanguíneo, estas vías son importantes ya que transmiten información relacionada con irritación por intoxicación gástrica (Lasiter et al., 1982; Yamamoto et al., 1992), por ejemplo, un estudio electrofisiológico demostró la activación de la corteza insular cinco minutos después de la inyección de LiCl (Weiner et al., 1994). También es importante considerar las conexiones recíprocas entre la corteza insular y la amígdala,

esta última relacionada con tareas aversivas como el condicionamiento al miedo y la prevención pasiva, así como con respuestas emocionales como el miedo y la agresión (McGaugh et al., 1990; Le Doux, 1993).

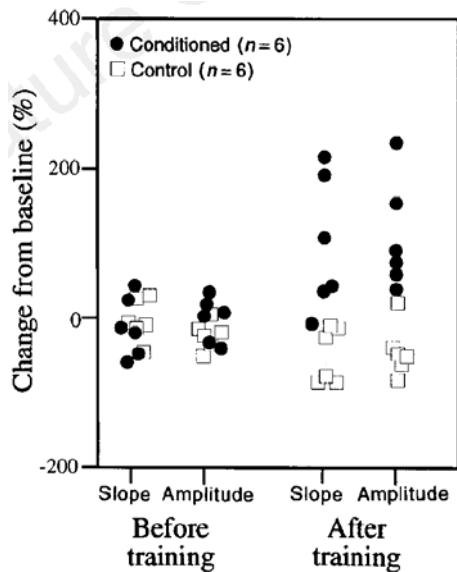


**Figura 6. Vía gustativa en rata y humano.** Esquemas donde se muestran las diferencias entre vía gustativa de los humanos y las ratas. (Abreviaturas: VII, nervio facial; IX, nervio glossofaríngeo; X, nervio vago; NHS, núcleo del haz solitario; NPB, núcleo parabrancial del puente; NVPM, núcleo ventroposteromedial del tálamo; CI, corteza insular; SI, sustancia innominada; HL, hipotálamo lateral; Am, amígdala.) (Modificado de Bear et al., 2001).

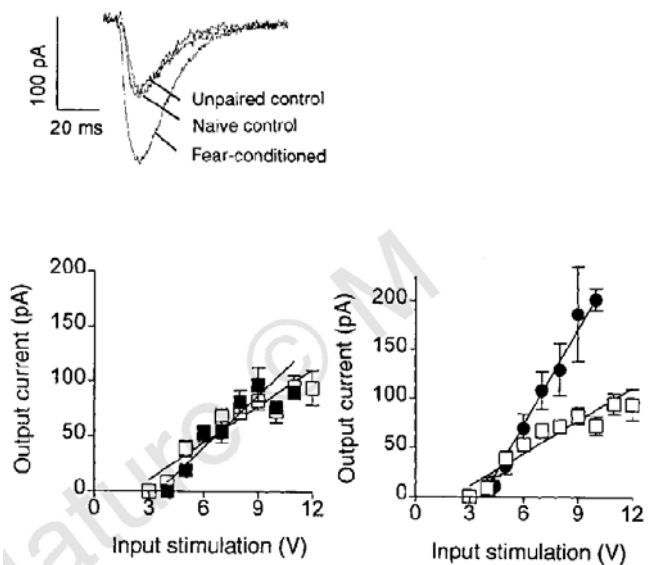
La amígdala en las ratas puede dividirse en cuatro grupos: (1) núcleo central; (2) núcleo medial; (3) núcleos basomedial y cortical; (4) núcleos lateral y basolateral. Se ha comprobado que la participación de la amígdala es indispensable en el CAS (Lamprencht et al., 1997; Yasoshima y Yamamoto, 1997) y que los rNMDA y AMPA en esta estructura son indispensables para la adquisición del CAS (Yasoshima et al., 2000).

## 2.4. Potenciación a largo plazo y conducta.

La LTP es un fenómeno muy útil para estudiar los mecanismos moleculares de la plasticidad sináptica. Existen evidencias sólidas a favor de una relación entre el aprendizaje y la LTP, por ejemplo, los resultados de Rogan et al. en 1997 y de McKernan et al. en el mismo año sugiere que el condicionamiento al miedo causa incrementos en la pendiente y amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios (PPSEs) en la amígdala lateral en ratas adultas. En sus experimentos, los dos grupos de investigación entrenaron a un grupo de ratas en el condicionamiento al miedo. Esta tarea de aprendizaje consiste en asociar un estímulo neutro, por ejemplo un tono, con un estímulo aversivo que en este caso fueron choques eléctricos en las patas de los animales entrenados. El grupo de Rogan et al. midió los potenciales de campo en la amígdala lateral en las ratas *in vivo* antes y después del condicionamiento. Observaron un incremento en la eficiencia sináptica (cambio en el porcentaje de la línea base, tanto en la pendiente como en la amplitud de los PPSEs) después del entrenamiento en el condicionamiento al miedo, contrario a lo que sucede en la condición control, donde no se parearon los dos estímulos (figura 7). Por su parte, el grupo de McKernan et al., 24 horas después de terminado el entrenamiento en dicha tarea, realizó cortes coronales del cerebro de las ratas con el fin de analizar las propiedades electrofisiológicas de la amígdala lateral después del condicionamiento (figura 8). Ellos estimularon las fibras eferentes del núcleo geniculado medial y registraron en la amígdala lateral. Posteriormente hicieron una comparación entre su grupo experimental y sus grupos controles, encontrando que debido al entrenamiento previo en el condicionamiento al miedo se presenta un incremento en las corrientes evocadas así como en las propiedades biofísicas de dicha conexión sináptica.



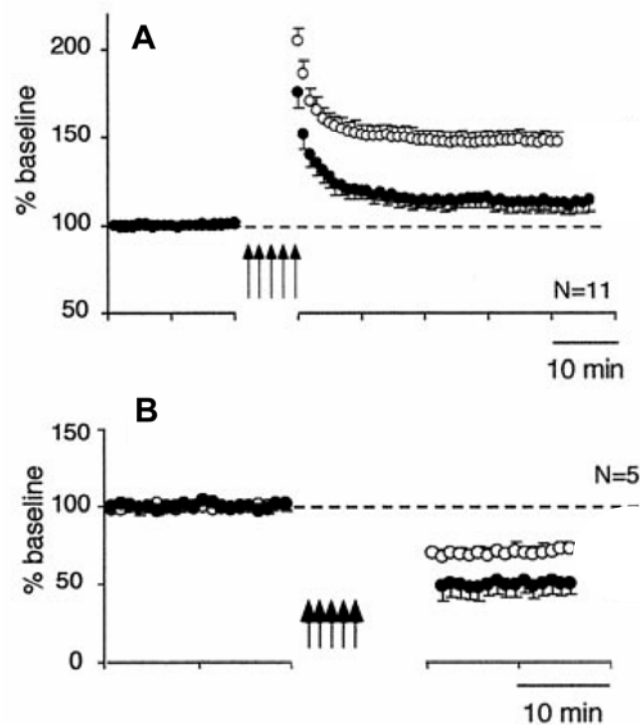
**Figura 7. El condicionamiento al miedo incrementa la eficiencia sináptica del núcleo lateral amigdalino *in vivo*.** En la gráfica se muestra un incremento en el porcentaje del cambio con respecto a la línea base, tanto en la amplitud como en la pendiente de los PPSEs, después del condicionamiento al miedo (círculos negros) en comparación al grupo control (cuadros blancos), el cual no fue entrenado en dicho condicionamiento. (Rogan et al., 1997).



**Figura 8. El condicionamiento al miedo incrementa la eficiencia sináptica del núcleo lateral amigdalino *in vitro*.** La figura muestra (arriba) la corriente postsináptica excitatoria de la amígdala lateral evocada con un estímulo de 9 voltios, comparando sus tres grupos: con condicionamiento al miedo, sin el pareamiento de los estímulos y un control intacto. Las gráficas de abajo muestran las curvas de entrada y salida (input-output), donde se mide la cantidad de corriente (eje de las y, en picoamperes, output) que producen diferentes intensidades de voltaje (eje de las x, en voltios, input). Los cuadros negros representan los controles intactos, los cuadros blancos representan los controles no pareados mientras que los círculos negros representan el grupo con condicionamiento al miedo. (McKerman y Shinnik-Gallagher, 1997).

Estos trabajos muestran cómo una tarea conductual afecta la eficiencia sináptica de una vía específica de la misma forma en la que lo hace la LTP (Rogan et al., 1997; McKerman y Shinnik-Gallagher, 1997). De manera muy similar, en 1998 Rioult-Pedotti et al. demostraron que la corteza motora primaria de ratas adultas presentaba un cambio en la eficiencia sináptica debido a una tarea de aprendizaje de una habilidad motora (motor skill learning). Esta tarea consiste en colocar a una rata en una caja, dentro de ésta se coloca una caja más pequeña con comida, que a su vez presenta un orificio de 1.3 centímetros por el cual se puede tomar el alimento. Las ratas son entrenadas a tomar la comida con una sola pata ya que es imposible hacerlo con las dos patas al mismo tiempo. Todas las ratas de la muestra prefirieron la pata derecha para realizar la tarea. La amplitud de los PPSEs en la corteza motora primaria del hemisferio entrenado aumentó significativamente con respecto a la corteza motora primaria del hemisferio contralateral, el cual sirvió como control (Rioult-Pedotti et al., 1998).

Este mismo grupo de investigación indujo LTP y LTD en el hemisferio entrenado. Sus resultados mostraron que la LTP fue significativamente reducida mientras que la LTD fue significativamente incrementada en el hemisferio entrenado (figura 9, círculos negros), comparado con el hemisferio contralateral, utilizado como control (figura 9, círculos blancos) (Rioult–Pedotti et al., 2000). Las investigaciones mencionadas presentan evidencias a favor de la hipótesis de que durante el aprendizaje existen incrementos en la eficiencia sináptica de manera similar a la LTP. Asimismo, el efecto producido por la conducta sobre la posibilidad de inducir subsecuente plasticidad sináptica guarda una estrecha relación con un fenómeno descrito por Abraham y Bear en 1996, quienes introdujeron al lenguaje de la neurociencia el término “metaplasticidad”.



**Figura 9. El entrenamiento en habilidades motoras modifica la subsecuente inducción de plasticidad en la corteza motora.** A. El entrenamiento en tareas motoras decrementa la LTP. B. El entrenamiento en tareas motoras incrementa la LTD. El eje de las ordenadas representa el porcentaje con respecto de la línea base tomada antes de la inducción de los trenes. Círculos negros: hemisferio entrenado. Círculos blancos: hemisferio no entrenado (Rioult–Pedotti et al., 2000).

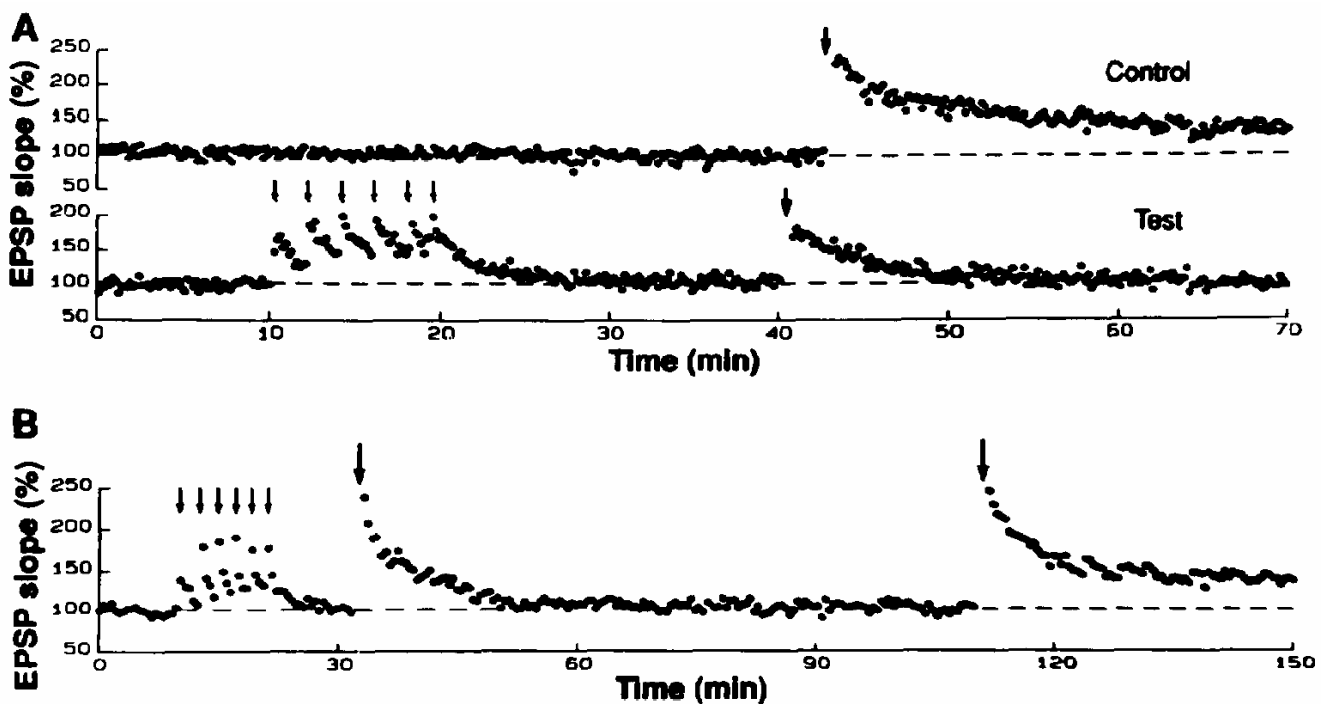
## 2.5. Metaplasticidad.

Bliss y Lømo en 1973 reportaron entre sus descubrimientos que una vía a la cual se la ha inducido LTP puede ser potenciada en repetidas ocasiones, posteriores a la primera inducción, sin embargo, el incremento será porcentualmente menor que la vez anterior, hasta que se llegue a un nivel de saturación donde, a pesar de seguir siendo inducidos los trenes de alta frecuencia, el sistema no responde con un incremento de la eficiencia sináptica. Esto nos muestra que es posible inducir modificaciones en la eficiencia sináptica en una vía a la que previamente se le han inducido cambios plásticos (Bliss y Lømo, 1973; Rioult–Pedotti et al., 2000).

Además, se ha encontrado que existe una relación entre la frecuencia de estimulación y la magnitud de la LTP. En las colaterales de Shaffer, por ejemplo, se ha reportado que se puede inducir LTP con tres trenes de 1 segundo de duración y 50Hz de frecuencia, con diez trenes de 200 milisegundos de duración y 200Hz y con estimulación theta (TBS). Para cada protocolo de estimulación se presenta un cambio en la eficiencia sináptica de diferente magnitud (Zakharenko et al., 2003). Asimismo, existen frecuencias de estimulación con las cuales no se presenta el fenómeno de la LTP, por ejemplo en el área CA1 del hipocampo se ha observado que estimulación sináptica de baja frecuencia (30 Hz) produce una potenciación a corto plazo, es decir, que el aumento en la eficiencia sináptica tiene una duración de mas de 30 minutos, pero menos de una hora. Después de éste tiempo la eficiencia sináptica vuelve a la línea basal y aparentemente no se produce ningún cambio al interior de la sinapsis. Sin embargo el cambio se observa cuando se induce LTP en la misma vía donde se estimuló con baja frecuencia, estos cambios incluyen una inhibición de la LTP y una facilitación de la LTD (figura 10) (Malenka, 1991; Huang et al., 1992). A este fenómeno se le llama metaplasticidad. El término metaplasticidad se puede definir como un cambio en la habilidad para inducir subsecuente plasticidad sináptica. Este cambio es más evidente cuando no es acompañado de modificaciones en la eficiencia sináptica, pero se ha descrito que la metaplasticidad y los cambios en la eficiencia sináptica pueden ser inducidos simultáneamente por la misma actividad sináptica. Por ejemplo, se



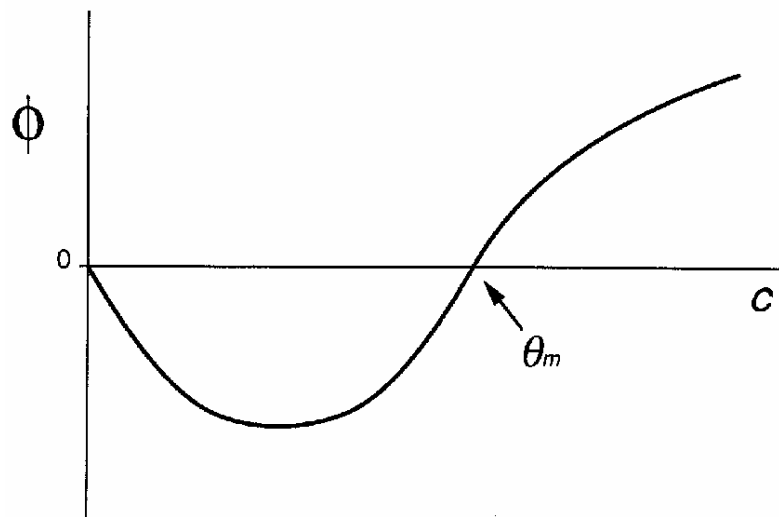
ha reportado que tanto para la neocorteza como para el hipocampo, la estimulación TBS induce LTP. Después de inducida la LTP, estimulación de baja frecuencia (de 1 a 3 Hz) provoca un decremento en la eficiencia sináptica con respecto a la potenciación provocada por los TBS, pero éste decremento en la eficiencia sináptica queda por encima de la línea basal (línea basal tomada antes de la inducción de los trenes de estimulación), siendo que al aplicar la misma baja estimulación a una vía sin la previa inducción de LTP, se observa que el decremento en la eficiencia sináptica es significativamente menor que la línea base (Abraham y Bear, 1996; Bear, 1996). Otro ejemplo lo podemos observar en la investigación de Bliss y Lømo de 1973 y de Rioult-Pedotti et al. en el 2000, donde nos muestran una disminución de la potenciación debida a la inducción previa de plasticidad sináptica (Bliss y Lømo, 1973; Rioult-Pedotti et al., 2000).



**Figura 10.** Efectos de la estimulación previa sobre la inducción de LTP en el área CA1 hipocampal. A, en una situación experimental donde normalmente se puede inducir el fenómeno de la LTP (arriba), la potenciación se ve inhibida debido a la estimulación previa de baja frecuencia (abajo). B, noventa minutos después de la inhibición, la LTP puede ser inducida de manera normal. (Huang et al. 1992)

### 2.5.1. Modelo Bienenstock-Cooper-Munro (BCM).

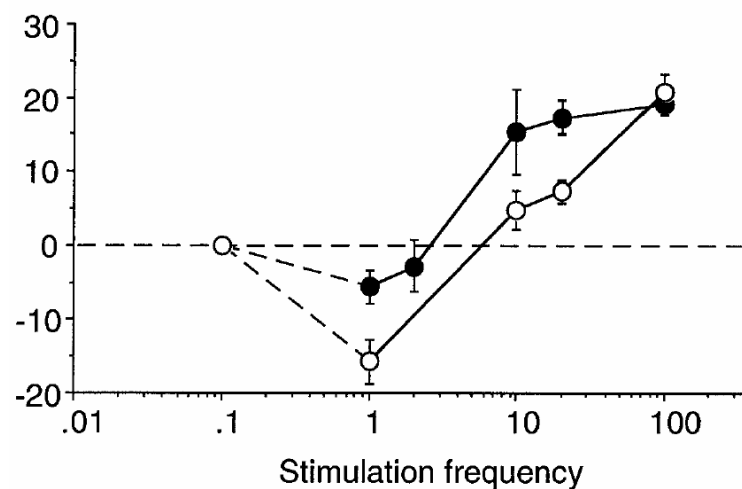
En 1982, Bienenstock, Cooper y Munro propusieron la existencia de un umbral de activación postsináptica, es decir, que una vía es potenciada cuando la activación postsináptica excede un valor crítico llamado umbral de modificación o  $\theta_m$ , mientras que una vía es depotenciada cuando la activación postsináptica es mayor que cero pero menor que el valor  $\theta_m$ . Dicha relación forma una curva que es conocida como modelo BCM (figura 11). Es importante recalcar que dicho umbral no es fijo (Bienenstock et al., 1982; Cooper et al., 1979). La frecuencia de estimulación, es directamente proporcional a la activación de la post-sinapsis, esto es, que a frecuencias más altas se da una mayor activación de la post-sinapsis mientras que a frecuencias más bajas la activación es menor, por lo cual el nivel de potenciación o depotenciación depende de la frecuencia de estimulación (Bear, 1996).



**Figura 11. Modelo BCM.** Función que explica la interacción entre el nivel de potenciación ( $\Phi$ ) y el nivel de activación postsináptica ( $c$ ). La gráfica muestra como al ir aumentando, a partir de cero, el nivel de activación de la post-sinapsis o la frecuencia de estimulación (eje de las abscisas), se observa primero un decremento en el nivel de potenciación (es decir LTD) (eje de las ordenadas) y a medida que va incrementando el grado de activación o frecuencia nos encontramos con el umbral  $\theta_m$ , tras cruzar este umbral se observa un incremento en la potenciación (es decir LTP) (tomado de Bear, 1996).

También se ha observado que la cantidad de calcio que entra a la célula es dependiente de la frecuencia de estimulación, es decir, con bajas frecuencias de estimulación se introduce una cierta cantidad de calcio (menos de  $0.4 \mu\text{M}$ ) al interior de la célula la cual produce LTD, mientras que con una

alta frecuencia entra a la célula una cantidad mayor de calcio (más de  $0.4 \mu\text{M}$ ) que produce LTP (Jedlicka, 2001; Bear, 2003). La modificación del umbral se ve reflejada en un cambio en la frecuencia requerida para el ingreso de determinadas cantidades de calcio al interior de la célula. Como ya se menciono, éste umbral es modificable (figura 12) y esta característica es considerada como un mecanismo homeostático que protege a las neuronas, por ejemplo, de estímulos de muy alta intensidad o frecuencia que pudieran provocar excitotoxicidad (Bear, 2003).



**Figura 12. Modificación del umbral.** Datos experimentales donde se muestra que el umbral  $\theta_m$  es modificado debido a la actividad previa. La gráfica muestra el porcentaje de incremento o decremento en la eficiencia sináptica (eje de las ordenadas) en respuesta a una serie de frecuencias de estimulación (eje de las abscisas), aplicadas a ratas con privación visual (círculos negros) y ratas normales (círculos blancos) (tomado de Bear, 1996).

### 2.5.2. Plasticidad homeostática.

Recientemente, los investigadores han distinguido dos tipos de modificaciones plásticas relacionadas con la eficiencia sináptica: una plasticidad “hebbiana” y una plasticidad “homeostática”. La plasticidad hebbiana se refiere a un tipo de modificación donde se tiende a desestabilizar las propiedades de la red neuronal, provocando un cambio progresivo en las funciones de la misma. Tal es el caso de la LTP, donde una alta estimulación desestabiliza las propiedades biofísicas de la membrana neuronal lo cual provoca un cambio perdurable en la eficiencia sináptica de dicha neurona. Es el

mismo caso para la LTD, solo que en este caso la desestabilización se traduce en una disminución de la eficiencia sináptica. Mientras tanto, la llamada plasticidad homeostática se refiere a un tipo de modificación donde la neurona activa mecanismos que tienden a conservar la eficiencia sináptica y resistirse a algún cambio en la misma. Tal es el caso del escalamiento sináptico, en el cual la neurona presenta un mecanismo de adaptación donde disminuye la eficiencia sináptica en respuesta a un incremento progresivo de la actividad, o bien un aumento en la eficiencia sináptica como respuesta ante un decremento progresivo de la actividad, manteniendo de este modo el equilibrio homeostático de las funciones eléctricas neuronales (Abbott y Nelson, 2000). La metaplasticidad es considerada como plasticidad homeostática, ya que tiende a mantener la eficiencia sináptica de la vía en cierto rango, alterando la habilidad de producir subsecuente plasticidad sináptica (Turrigiano y Nelson, 2000; Pérez-Otaño y Ehlers, 2005). Es importante mencionar que existen también cambios metaplásticos que en vez de inhibir, facilitan la inducción de la LTP, esto es, la modificación del umbral se da hacia el lado izquierdo (figura 12, círculos negros). Este efecto se ha inducido con privación de la actividad (Kirkwood et al., 1996), mediante la activación de canales metabotrópicos glutamatérgicos (receptores mGlu) (Cohen y Abraham, 1996) y, en ciertas condiciones experimentales, con un protocolo de estimulación de 80 pulsos de 5 Hz en la vía perforante (Christie et al., 1995).

Se han descrito dos posibles mecanismos mediante los cuales la metaplasticidad modifica la posibilidad de inducir subsecuentes cambios plásticos. En primer lugar, se habla de un mecanismo mediante el cual la CaMKII modifica el umbral  $\theta_m$ . El incremento en las cantidades de calcio al interior de la célula da como resultado la autofosforilación de la CaMKII, la cual limita la posibilidad de que la CaMKII interactúe con otras enzimas relacionadas con la inducción de la LTP. Esto reduce eventos moleculares como la fosforilación del rAMPA, disminuyendo de esa forma la conductancia de estos canales y reduciendo su inserción en la membrana (Abraham y Tate, 1997; Glazewski et al., 2001; Jedlicka, 2002). Un segundo mecanismo nos dice que el cambio en el umbral  $\theta_m$  es dependiente de las subunidades del rNMDA. La actividad sináptica provoca un cambio en la distribución de las subunidades del

rNMDA, aumentando la cantidad de la subunidad NR2a y disminuyendo la cantidad de la subunidad NR2b. Se ha demostrado que la subunidad NR2a tiene una cinética más rápida, es decir, que el canal se abre y se cierra más rápidamente que con la subunidad NR2b. Este efecto produce que los rNMDA que contengan subunidades NR2a, presenten una mayor resolución (es decir, responde más efectivamente) ante los estímulos de alta frecuencia, como los que inducen LTP, mientras que los que contengan la subunidad NR2b tendrán una mayor resolución ante estímulos de baja frecuencia, como los que inducen LTD. Entonces, cuando la actividad produce un aumento de la subunidad NR2a, la relación entre la modificación de la eficiencia sináptica y la frecuencia de estimulación es alterada, ya que al existir una mayor cantidad de subunidad NR2a conformando a los receptores NMDA en la membrana postsináptica, ésta tiende a responder de forma más efectiva ante los estímulos de alta frecuencia, provocando que se requiera de altas frecuencias para introducir calcio al citoplasma de la neurona y, asimismo, modificando la relación entre la frecuencia de estimulación y el cambio en la eficiencia sináptica (figura 12, círculos blancos). Este efecto dificulta en consecuencia, la inducción de LTP (se requieren más altas frecuencias para introducir la misma cantidad de calcio) (Bear, 2003; Quinlan et al., 2004; Erreger et al., 2005; Perez-Otaño y Ehlers, 2005). Es de esperarse que estos dos mecanismos no sean mutuamente excluyentes, sino que actúen en conjunción cuando se induce el cambio metaplástico.

### **2.5.3. Metaplasticidad y conducta en la neocorteza.**

Los cambios metaplásticos están representados en diferentes áreas del sistema nervioso central como la neocorteza o el hipocampo (Bear, 1996) y, como se mencionó anteriormente, la conducta modifica la subsecuente posibilidad de inducir plasticidad sináptica (Rioult-Pedotti et al., 2000). Por ejemplo, Quinlan et al. utilizaron una tarea de discriminación olfativa e indujeron LTP. Se observó que la tarea mencionada anteriormente reduce la LTP inducida por trenes de alta frecuencia de estimulación en la corteza piriforme, relevo final de la vía olfativa (Quinlan et al., 2004). De manera similar, en 2004 Monfils y Teskey observaron que se presenta un incremento en la eficiencia

sináptica en la corteza sensoriomotora debido al entrenamiento en habilidades motoras y que este incremento modifica la posibilidad de inducir plasticidad sináptica subsecuente. Dicha investigación se realizó con ratas adultas *in vivo* en libre movimiento (Monfils y Teskey, 2004).

Se cree que el aprendizaje, además de inducir cambios en la eficiencia sináptica, también incrementa el umbral para futuros cambios en la eficiencia sináptica ( $\theta_m$ ), la investigación de Quinlan et al. en 2004, la de Monfils y Teskey en el mismo año al igual que la realizada por Rioult–Pedotti et al. en 2000, constituyen evidencias que apoyan la hipótesis mencionada.

En seres humanos se han realizado investigaciones que relacionan al aprendizaje con los cambios en la excitabilidad de las neuronas. Durante una tarea de aprendizaje se entrenó a un grupo de sujetos a incrementar la velocidad en el movimiento de su dedo pulgar, este aprendizaje está asociado con un cambio rápido en la excitabilidad de la corteza motora primaria, similar a lo encontrado por Rioult–Pedotti et al. en 1998 (Muellbacher et al., 2001). La plasticidad en el área motora primaria de humanos es inducida mediante el procedimiento de estimulación asociativa pareada (PAS), que consiste en la aplicación de 200 pulsos de estimulación eléctrica al nervio medial de la mano derecha seguido de estimulación magnética transcraneal al área correspondiente a la mano en la corteza motora primaria, lo cual provoca un incremento similar a la LTP o un decremento similar a la LTD en los potenciales motores evocados, de forma análoga a lo que sucede con los EPSPs en la LTP y la LTD (Stefan et al., 2000; Wolters et al., 2003). Ziemann et al. entrenaron a un grupo de sujetos en la tarea de aprendizaje antes mencionada y posteriormente indujeron el protocolo del PAS. Observaron que, de forma análoga a la LTP y la LTD en el área motora primaria de las ratas adultas, la tarea de aprendizaje produce un decremento en la potenciación de la eficiencia sináptica y un incremento en la depresión de la eficiencia sináptica, lo cual puede explicarse sugiriendo que se produjo una modificación del umbral  $\theta_m$  (Ziemann et al., 2004).

Anteriormente se mencionó que el efecto metaplástico es temporal. Por ejemplo, en la preparación *in vitro* de Huang et al. en 1992, se estimularon las fibras colaterales de Shaffé y se produjo una modificación en la habilidad para inducir cambios plásticos subsecuentes en el área CA1 hipocampal (Figura 10). 90 minutos después de probado el efecto metaplástico, el fenómeno de la LTP puede ser inducido de manera normal (Huang et al., 1992), esto nos habla de la reversibilidad y dependencia del tiempo que tiene el fenómeno metaplástico. Sin embargo, cuando se induce el fenómeno *in vivo* y dependiente de la conducta, las ventanas de tiempo que se presentan no son similares. En 2005, Schroeder y Shinnick-Gallagher reportaron que la LTP en la amígdala lateral producida con estimulación de alta frecuencia se vio bloqueada debido al entrenamiento previo en una tarea de condicionamiento al miedo y que este efecto es igualmente observado si la LTP es inducida uno o diez días después del entrenamiento en la tarea conductual (Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005). Este estudio muestra que el fenómeno metaplástico *in vivo* difiere de lo observado en las preparaciones *in vitro*. La permanencia de este fenómeno nos hace pensar en la relevancia de éste para los organismos vivos.

Ya vimos que la conducta previa a la inducción de LTP produce un efecto metaplástico, pero ¿la inducción previa de la LTP modifica la conducta? En 1998 Moser et al. observaron que debido a la saturación de LTP en la vía perforante, las ratas presentaban una disminución en la memoria espacial, específicamente, tardaron alrededor de 10 por ciento más tiempo en encontrar la plataforma en el laberinto de agua de Morris (watermaze) (Moser et al. 1998). Esta relación entre la LTP y el aprendizaje de tareas no es exclusiva del hipocampo. Estudios previos de nuestro laboratorio demostraron que la inducción de LTP en la corteza insular antes del CAS, provoca una disminución en el consumo de sacarina durante las pruebas de extinción comparados con los grupos controles que no se les indujo LTP previa al entrenamiento en dicha tarea, es decir, aumenta la retención del condicionamiento aversivo a los sabores (Escobar et al., 2000). Esto nos muestra que los mecanismos mediante los cuales actúa la LTP tienen coincidencias con los mecanismos de los cuales dependen dichas tareas conductuales.

El efecto metaplástico que produce la conducta sobre la LTP y la LTD ha llevado a la comunidad neurocientífica a considerar a los fenómenos de plasticidad homeostática como mecanismos reguladores de las funciones celulares de las neuronas, que subyacen al almacenamiento de la información.



### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.**

La investigación de los procesos mnémicos a partir del estudio de las modificaciones en la eficiencia sináptica nos acerca a entender los mecanismos de comunicación celular que subyacen a estos procesos y nos brinda una visión dinámica de la interacción entre las moléculas, la actividad eléctrica y las redes neuronales que intervienen en el almacenamiento de información.

Existen evidencias que sugieren que la tarea del CAS puede tener influencia sobre la LTP inducida en la corteza insular. Estudios previos de nuestro grupo demuestran que la estimulación tetánica de la amígdala basolateral induce LTP en la corteza insular agranular de ratas adultas (Escobar et al., 1998a), y que éste fenómeno es dependiente de los rNMDA (Escobar et al., 1998a; 1998b; 2002). De manera análoga encontramos que inhibidores del rNMDA deterioran la adquisición del CAS (Escobar et al. 1998b; 2002). Cabe mencionar que ni el CAS ni la LTP en la corteza insular se vieron alterados cuando se infundieron inhibidores de receptores glutamatérgicos metabotrópicos en la corteza insular agranular (Escobar et al. 2002). Asimismo, se ha reportado que ciertas tareas conductuales modifican la eficiencia sináptica de manera similar a la LTP (Rogan et al., 1997; McKerman y Shinnik-Gallagher, 1997; Rioulti-Pedotti et al., 1998), y que el entrenamiento en ciertas tareas de aprendizaje modifica la subsecuente inducción de la LTP (Monfils y Teskey, 2004; Rioulti-Pedotti et al., 2000; Quinlan et al., 2004; Ziemann et al., 2004). Finalmente, en un estudio reciente de nuestro grupo de investigación, observamos que la inducción de LTP previa al CAS aumenta la retención de éste condicionamiento (Escobar y Bermúdez-Rattoni., 2000).

#### 4. OBJETIVOS.

Tomando en cuenta lo planteado en los antecedentes, la presente investigación pretende:

- Analizar la influencia del entrenamiento del condicionamiento aversivo a los sabores sobre la subsecuente inducción de la potenciación a largo plazo en la vía de comunicación que va del núcleo basolateral amigdalino a la corteza insular agranular de ratas adultas *in vivo*.
- Caracterizar el curso temporal de la modificación producida por el condicionamiento aversivo a los sabores sobre la subsecuente inducción de la potenciación a largo plazo en la corteza insular.

## 5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

### 5.1. Sujetos.

Para la presente investigación se prepararon 42 ratas macho de la cepa Wistar con pesos de 350-380g, que se mantuvieron en cajas individuales de acrílico, y estuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad 12h/12h a una temperatura promedio de 22°C; con comida y agua *ad libitum* (excepto en las fases experimentales que especifiquen lo contrario).

### 5.2. Grupos experimentales

Las ratas que fueron utilizadas para nuestra investigación fueron divididas de la siguiente forma (tabla 1):

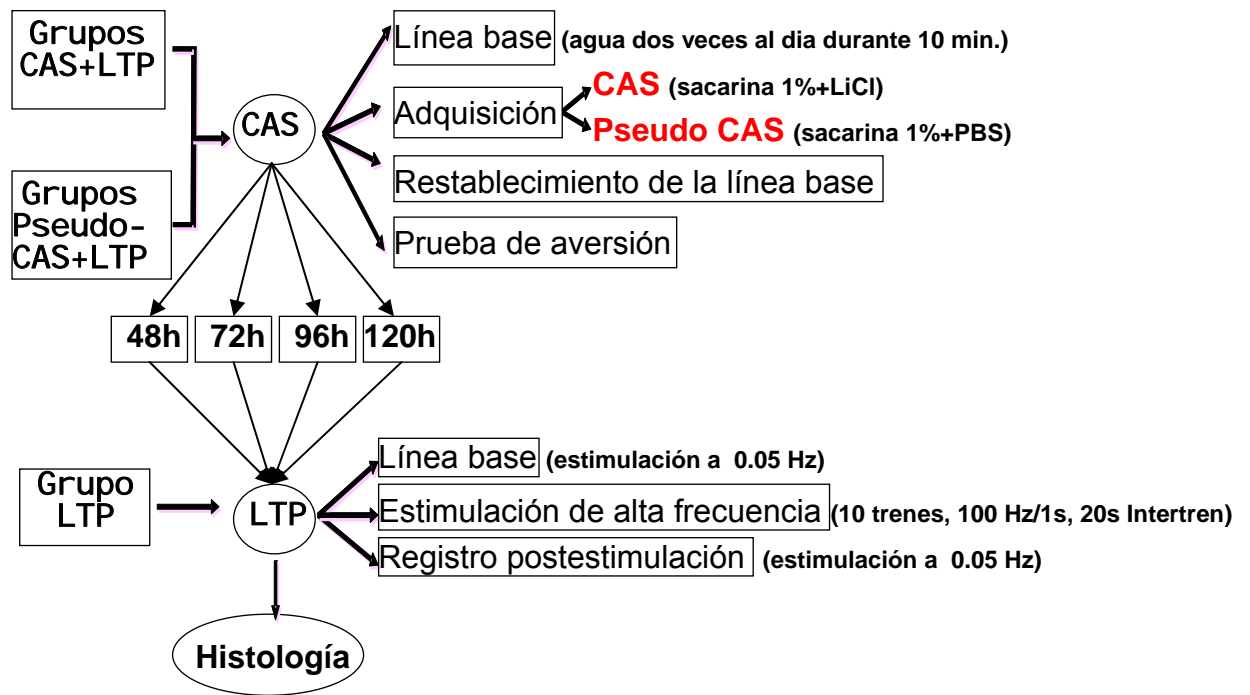
- Grupos CAS+LTP, los cuales fueron entrenadas en el CAS normalmente 48, 72, 96 y 120 horas previas a la inducción de la LTP en la corteza insular: grupo CAS+LTP48 (n=4), grupo CAS+LTP72 (n=4), grupo CAS+LTP96 (n=4) y grupo CAS+LTP120 (n=5).
- Grupos pseudoCAS+LTP, a los cuales se entrenó en el CAS 48, 72, 96 y 120 horas previas a la inducción de la LTP, en ausencia del estímulo aversivo; en substitución del cloruro de litio se les administró una inyección de PBS (vehículo), el cual no causa la asociación sabor-malestar gástrico: grupo pseudo-CAS+LTP48 (n=4), grupo pseudo-CAS+LTP72 (n=6), grupo pseudo-CAS+LTP96 (n=5) y grupo pseudo-CAS+LTP120 (n=5),.
- Grupo LTP (n=5), que fue introducido directamente a la fase electrofisiológica (figura 13).

Grupos / horas	CAS+LTP (n=17)	pseudoCAS+LTP (n=20)	LTP (n=5)
48	CAS+LTP48 (n=4)	pseudoCAS+LTP48(n=4)	
72	CAS+LTP72 (n=4)	pseudoCAS+LTP72(n=6)	
96	CAS+LTP96 (n=4)	pseudoCAS+LTP96(n=5)	
120	CAS+LTP120 (n=5)	pseudoCAS+LTP120(n=5)	

**Tabla 1.** Grupos de ratas utilizados para nuestros experimentos.

### **5.3. CAS.**

Al inicio del entrenamiento en el CAS, los animales fueron privados de agua por 24 horas. Posteriormente se les entrenó para beber agua dos veces al día (10:00 y 18:00 horas) durante 10 minutos por cada sesión de entrenamiento en un periodo de cuatro días durante los cuales se estableció la línea base de consumo. Los bebederos fueron contruidos con probetas graduadas cubiertas con tapones de caucho horadados con boquillas de metal. El día de la adquisición los animales fueron privados de alimento y se sustituyó el agua por un sabor novedoso, solución de sacarina al 0.1% (Sigma, WI). Después de 10 minutos de la presentación del estímulo novedoso, se administró una dosis intraperitoneal de cloruro de litio (0.2 M; 9.37 ml/Kg) para inducir el malestar digestivo. Después de la sesión de adquisición, a las ratas se les proporcionó de nueva cuenta agua dos veces al día durante un periodo de 2 días. con el fin de restablecer la línea base de consumo de agua. Una vez restablecida la línea base (dos días después del inicio del restablecimiento), el agua fue sustituida nuevamente por la solución de sacarina 0.1% durante la prueba de aversión. La disminución del consumo de sacarina con respecto a la ingesta de agua con dicho sabor durante la sesión de adquisición fue usada como parámetro de la fuerza aversiva del CAS. Para este trabajo se programaron las sesiones de adquisición del estímulo aversivo de cada rata con 24 horas de diferencia entre ellas, con el fin de realizar un experimento electrofisiológico al día, exactamente 48, 72, 96 y 120 horas después de la prueba de aversión dependiendo del grupo.

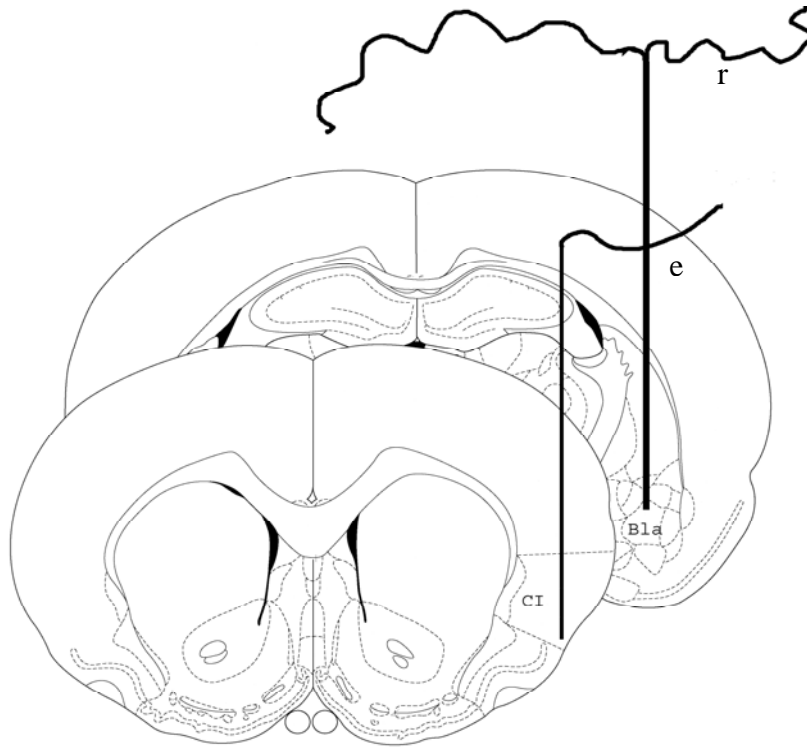


**Figura 13.** Diagrama de flujo del procedimiento experimental empleado durante nuestro trabajo de investigación.

#### 5.4. Electrofisiología.

Tras 48, 72, 96 y 120 horas de concluida la fase conductual los cuatro grupos CAS+LTP y los cuatro grupos pseudoCAS+LTP fueron sometidos a cirugía. El grupo LTP fue introducido a la fase electrofisiológica sin previo entrenamiento en el CAS. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital (50mg/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 homeotérmico. Las respuestas en la corteza insular fueron registradas unilateralmente con un electrodo monopolar de acero de 127 micrómetros de diámetro, colocado en las coordenadas de la corteza insular: AP +1.2mm, ML 5.5 mm, DV -5.5mm (Paxinos y Watson, 1995). Las respuestas fueron evocadas unilateralmente a través de estimulación directa en el núcleo basolateral amigdalino, en las coordenadas: AP -2.8mm, ML -5.0mm, -8.5mm + ó - 0.2 (figura 14) (Paxinos y Watson, 1995), con un electrodo bipolar trenzado de acero de 127 micrómetros. La estimulación (pulsos monofásicos de 20-40  $\mu$ A y 0.1-0.25 msec de duración) fue suministrada por un estimulador Grass S48. Las respuestas evocadas fueron registradas con una unidad de aislamiento (PSIU6), la cual envía la señal a un amplificador Grass P5. Posteriormente la señal fue digitalizada para su almacenamiento y análisis en una computadora provista del software "Data Wave".

Estímulos de baja frecuencia fueron evocados (cada 20 segundos, 0.05 Hz) durante los 20 minutos que constituyen la línea base. Las señales electroencefalográficas fueron monitoreadas en todo momento del registro. 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. Tras la estimulación de alta frecuencia, las respuestas evocadas fueron registradas durante una hora más, con el fin de observar los cambios en la pendiente de los PPSEs.



**Figura 14. Ubicación de los electrodos.** En este esquema se muestran los sitios de colocación de los electrodos de registro (r) y estimulación (e). Abreviaciones: Bla, basolateral amigdalino; CI, corteza insular.

### 5.5. Histoquímica de Nissl.

Tras los experimentos electrofisiológicos, los cerebros de los animales fueron analizados histoquímicamente con el fin de observar la ubicación exacta de los electrodos. Los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis del anestésico pentobarbital. Posteriormente se efectuó una perfusión, donde se hizo circular sustancias a través del aparato circulatorio de los animales con el fin de limpiar y fijar los cerebros antes de la tinción. La perfusión se efectuó transcárdialmente con 400 ml de PBS 0.1M (pH 7.4), seguido por 400 ml de paraformaldehído (4%), glutaraldehído (0.2)% y amortiguador de fosfatos al 0.1M con pH 7.4. El periodo de exposición a los

fijadores fue de 30 minutos. Los cerebros fueron entonces transferidos a una solución de sucrosa al 30% en PBS 0.1M (pH 7.4) en la cual se mantiene a 4°C durante 48 horas. Secciones coronales de 40  $\mu\text{m}$  fueron colectadas en amortiguador de fosfatos tras su obtención por micrótomo de congelación (LEICA RM 2000R). Las muestras fueron teñidas con violeta de cresilo y examinadas en un microscopio de luz, con el fin de verificar la posición exacta de los electrodos en el cerebro de la rata.

### **5.6. Análisis de Datos.**

El análisis de los datos generados durante los experimentos conductuales se efectuó a través del ANOVA factorial, en tanto el correspondiente a los experimentos electrofisiológicos empleó el ANOVA de medidas repetidas. En ambos casos se empleó la prueba post-hoc de Fisher.

## **6. RESULTADOS.**

### **6.1. Conductuales**

#### **Línea base y adquisición.**

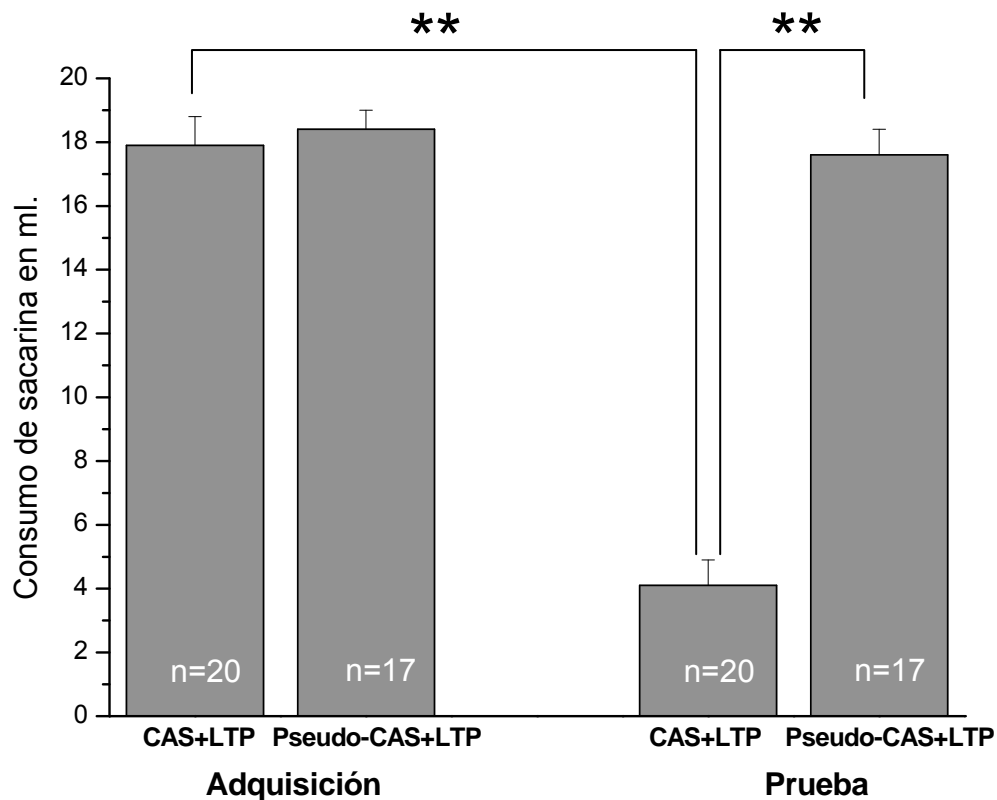
No existieron diferencias significativas entre ninguno de los grupos durante el consumo basal de agua (línea base), ni durante el consumo de la solución de sacarina durante la sesión de adquisición del CAS. El promedio de consumo de agua de la línea base fue de  $17.1 \pm 0.9$  ml para los grupos CAS+LTP y de  $17.6 \pm 0.8$  ml para los grupos pseudoCAS+LTP. En la sesión de adquisición del CAS, el promedio de consumo de sacarina fue de  $17.9 \pm 0.9$  ml para los grupos CAS+LTP y de  $18.4 \pm 0.6$  ml para los grupos pseudoCAS+LTP (figura 15).

#### **Prueba de aversión.**

Por el contrario, se observaron diferencias significativas entre los grupos CAS+LTP y pseudoCAS+LTP en la prueba de aversión al sabor (figura 15).

El ANOVA factorial reveló diferencias altamente significativas entre los grupos ( $F=229.60$ ,  $P<0.0001$ ). Asimismo, el análisis post hoc empleando la prueba de Fisher mostró que el consumo de sacarina en la prueba de aversión de los grupos CAS+LTP presentó diferencias significativas ( $p<.0001$ ) con respecto al consumo de sacarina en la sesión de adquisición del mismo grupo así como con respecto a las sesiones de adquisición y prueba de aversión del grupo pseudoCAS+LTP.





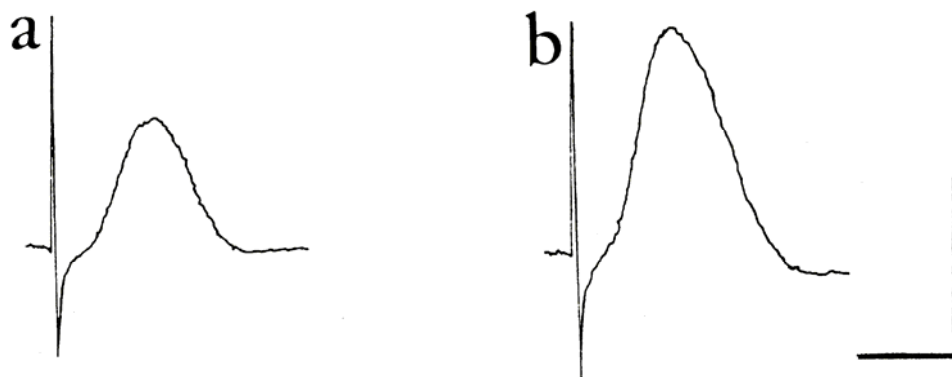
**Figura 15. Consumo de sacarina durante el CAS.** Consumo de sacarina en mililitros (media  $\pm$  desviación estándar) durante la sesión de adquisición (Adquisición) y la prueba de aversión (prueba). \*\* =  $P < 0.01$ .

## 6.2. Electrofisiológicos.

En este estudio, como anteriormente se ha reportado (Escobar et al, 1998a), se muestra que diez trenes de estimulación con duración de un segundo cada uno a una frecuencia de 100 Hz, induce LTP en la vía de comunicación que va del núcleo basolateral amigdalino hacia la corteza insular de ratas *in vivo*.

La respuesta característica de esta señal, la cual fue inducida por pulsos monofásicos de 20-40  $\mu$ A y 0.1-0.25 ms de duración, inició de 2 a 3 ms y presentó su valle de los 7 a 9 ms aproximadamente. La amplitud promedio de estos potenciales de campo fue de  $0.32 \pm 0.01$  mV, con una pendiente de  $0.075 \pm 0.002$ . La LTP presentó un incremento post tetánico, característico de la LTP dependiente del rNMDA, tanto en la amplitud como en la pendiente de los PPSEs.

En los grupos pseudoCAS+LTP y LTP se observó un incremento significativo en los PPSEs con respecto de la línea base, tomada 20 minutos antes de la inducción de los trenes (figura 16). Este incremento fue de  $35.24 \pm 2.69$  % para el grupo pseudoCAS+LTP48, de  $35.35 \pm 10.74$  % para el grupo pseudoCAS+LTP72, de  $27.77 \pm 6.38$  % para el grupo pseudoCAS+LTP96 y de  $39.20 \pm 5.96$  % para el grupo pseudoCAS+LTP120 mientras que para el grupo LTP, el incremento fue de  $38.10 \pm 7.81$  %, es decir que hubo presencia de potenciación a largo plazo en respuesta a la estimulación de alta frecuencia en todos los grupos mencionados. Mientras tanto, en los grupos CAS+LTP el cambio de los PPSEs con respecto de la línea base fue de:  $4.68 \pm 2.24$  % para el grupo CAS+LTP48,  $3.69 \pm 2.54$  % para el grupo CAS+LTP72,  $2.98 \pm 3.32$  % para el grupo CAS+LTP96 y  $1.66 \pm 2.83$  % para el grupo CAS+LTP120, lo cual indica que no se presentó la potenciación a largo plazo en dichos grupos después de la inducción de los trenes de alta frecuencia.

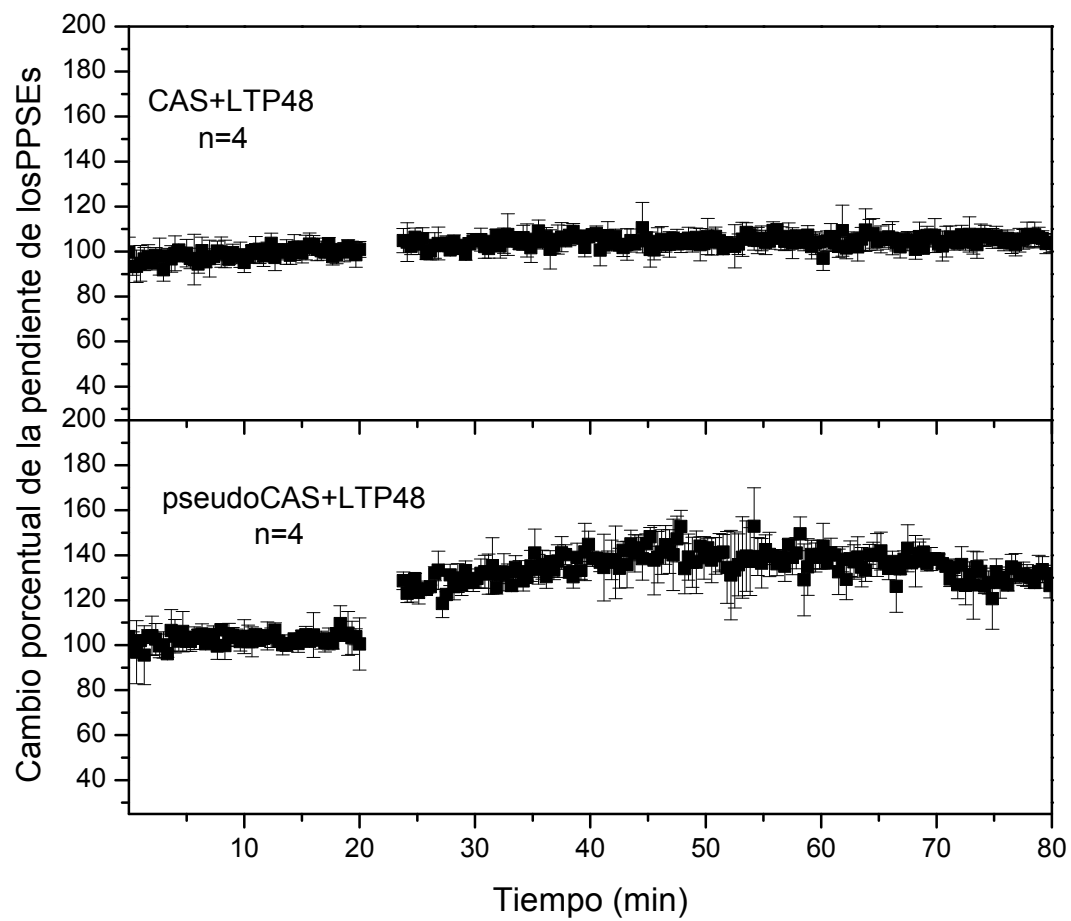


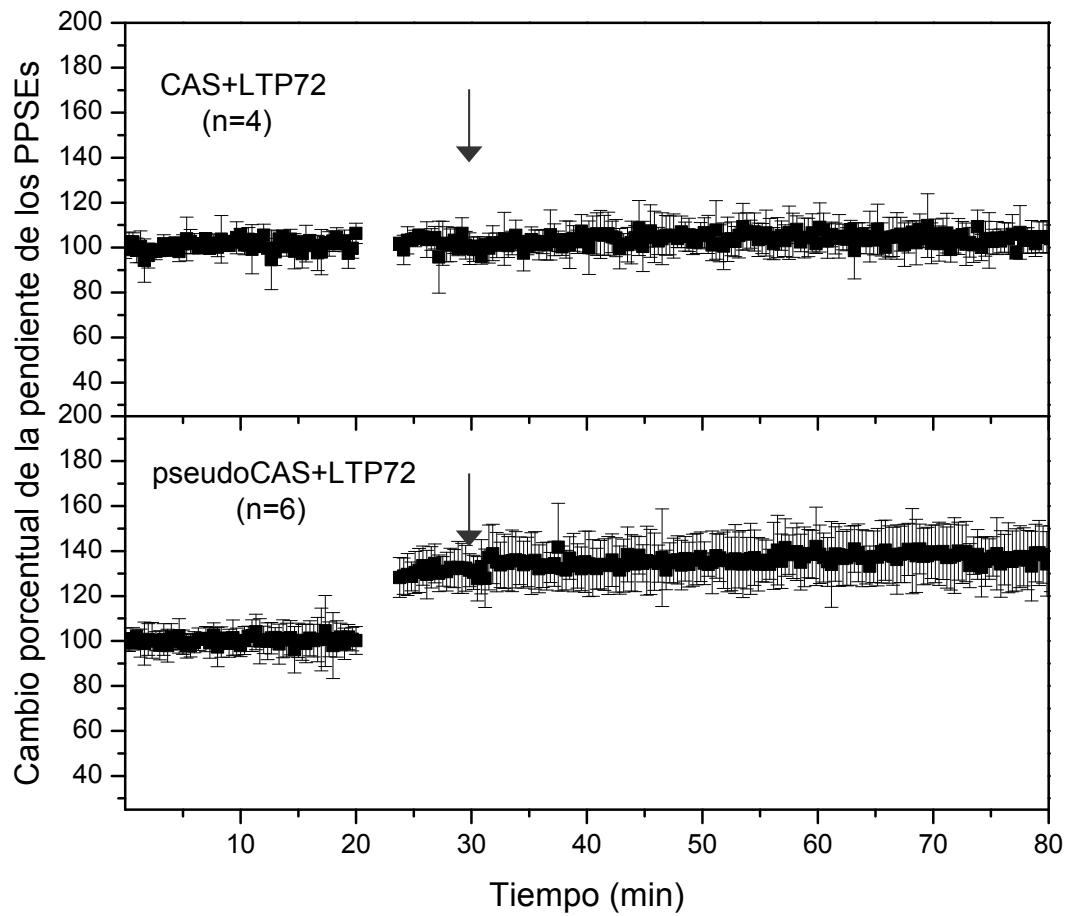
**Figura 16. PPSEs en la CI.** Los trazos muestran ejemplos de los PPSEs tomados antes (a) y 60 minutos después (b) de la inducción de los trenes de alta frecuencia en la vía Bla-CI (escala: 9 ms, 0.4 mV).

En el análisis estadístico, se comparó la pendiente de los PPSEs medidos después de la inducción de los trenes de alta frecuencia de todos los grupos. Estos grupos mostraron diferencias significativas cuando se utilizó el ANOVA de medidas repetidas ( $F = 27.067_{(8,33)}$   $p < 0.0001$ ). El análisis post hoc empleando la prueba de Fisher mostró que los grupos pseudo-CAS+LTP48 ( $n=4$ ), pseudo-CAS+LTP72 ( $n=6$ ), pseudo-CAS+LTP96 ( $n=5$ ), grupo pseudo-CAS+LTP120 ( $n=5$ ) y LTP ( $n=5$ ), los cuales presentaron potenciación a largo

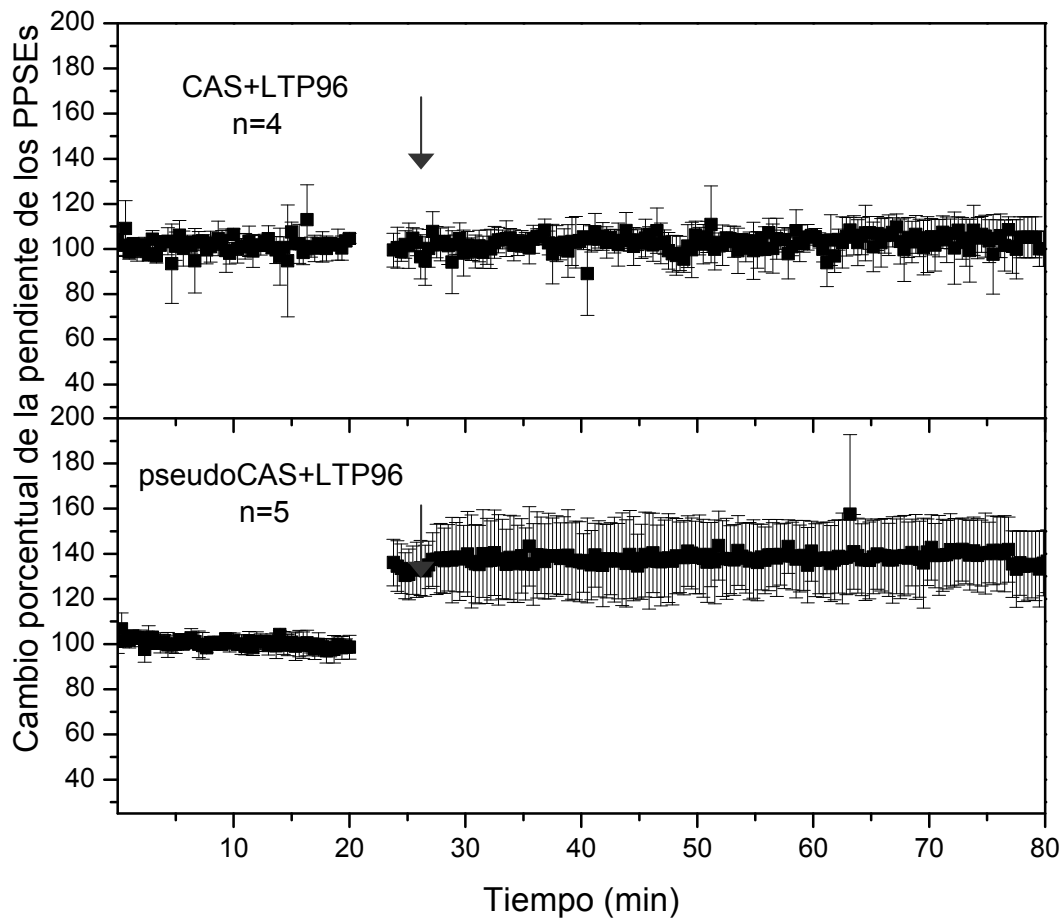
plazo, no mostraron diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, todos y cada uno de los grupos mencionados anteriormente presentó diferencias significativas ( $p < .0001$ ) con respecto a los grupos CAS+LTP48 (n=4), CAS+LTP72 (n=4), CAS+LTP96 (n=4) y CAS+LTP120 (n=5). Asimismo, los grupos CAS+LTP48 (n=4), CAS+LTP72 (n=4), CAS+LTP96 (n=4) y CAS+LTP120 (n=5) no presentaron diferencias significativas entre ellos. Estas Interacciones nos indican que los grupos CAS+LTP, los cuales no presentaron LTP en respuesta a la estimulación de alta frecuencia, presenta diferencias significativas con respecto a los grupos pseudoCAS+LTP y LTP, que sí presentaron el fenómeno, lo cual muestra que el entrenamiento en el CAS inhibe la subsecuente inducción de LTP en la CI. Estos datos también nos indican que no existen diferencias significativas entre las distintas ventanas de tiempo de los grupos CAS+LTP, lo cual muestra que el efecto producido por el CAS sobre la subsecuente posibilidad de inducir LTP en la CI, es persistente en el tiempo.



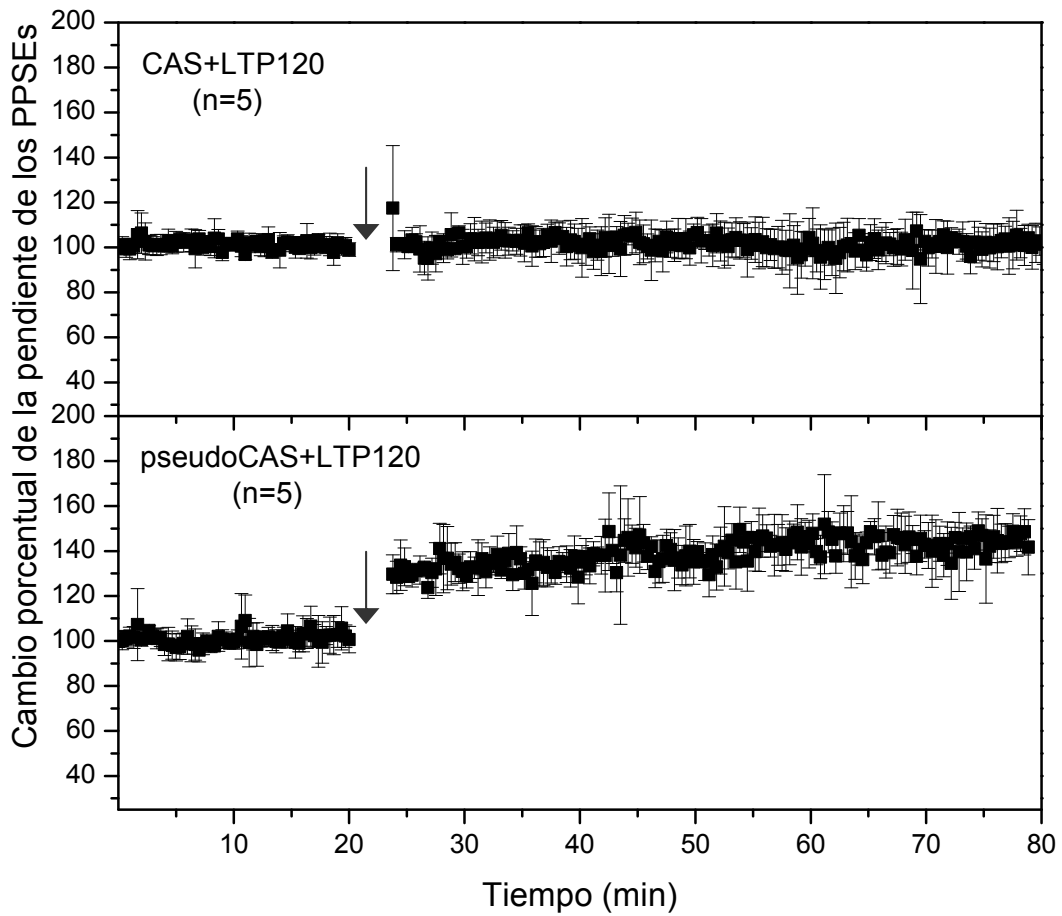




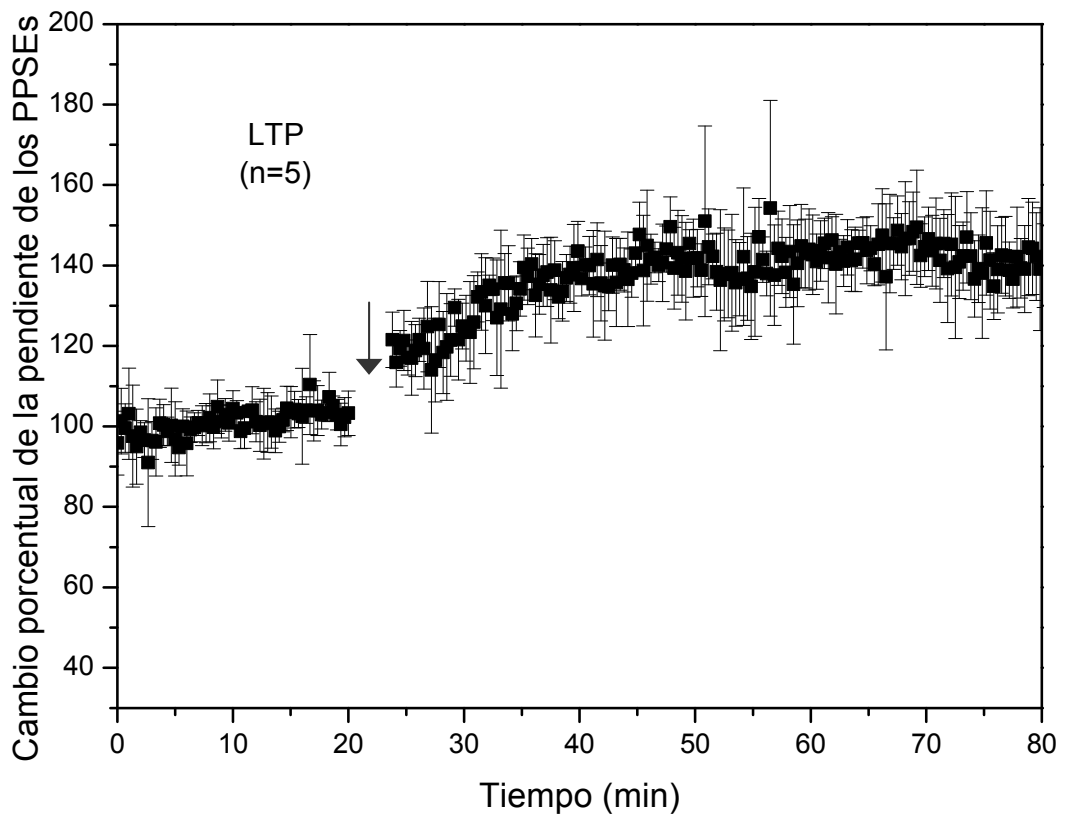
**Figura 18. Inducción de la LTP 72h después del CAS.** En esta grafica se muestran la pendiente de los PPSEs medidos en la vía Bla-CI de los grupos CAS+LTP72 y pseudoCAS+LTP72. Se tomaron veinte minutos de línea base previa a la estimulación, con una frecuencia de 0.05 Hz (un pulso cada 20 segundos). Posteriormente se aplicaron 10 trenes de 100 Hz durante un segundo cada 20 segundos (flecha). Los cuadros negros representan la media  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base. La línea base es la media de los PPSEs medidos antes de la inducción de los trenes (100%). Posterior a los trenes de alta estimulación, se registró durante una hora mas (60 min.) para observar los cambios en la eficiencia sináptica debido a la estimulación.



**Figura 19. Inducción de la LTP 96h después del CAS.** En esta grafica se muestran la pendiente de los PPSEs medidos en la vía Bla-CI de los grupos CAS+LTP96 y pseudoCAS+LTP96. Se tomaron veinte minutos de línea base previa a la estimulación, con una frecuencia de 0.05 Hz (un pulso cada 20 segundos). Posteriormente se aplicaron 10 trenes de 100 Hz durante un segundo cada 20 segundos (flecha). Los cuadros negros representan la media  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base. La línea base es la media de los PPSEs medidos antes de la inducción de los trenes (100%). Posterior a los trenes de alta estimulación, se registró durante una hora mas (60 min.) para observar los cambios en la eficiencia sináptica debido a la estimulación.



**Figura 20. Inducción de la LTP 120h después del CAS.** En esta grafica se muestran la pendiente de los PPSEs medidos en la vía Bla-CI de los grupos CAS+LTP120 y pseudoCAS+LTP120. Se tomaron veinte minutos de línea base previa a la estimulación, con una frecuencia de 0.05 Hz (un pulso cada 20 segundos). Posteriormente se aplicaron 10 trenes de 100 Hz durante un segundo cada 20 segundos (flecha). Los cuadros negros representan la media  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base. La línea base es la media de los PPSEs medidos antes de la inducción de los trenes (100%). Posterior a los trenes de alta estimulación, se registró durante una hora mas (60 min.) para observar los cambios en la eficiencia sináptica debido a la estimulación.

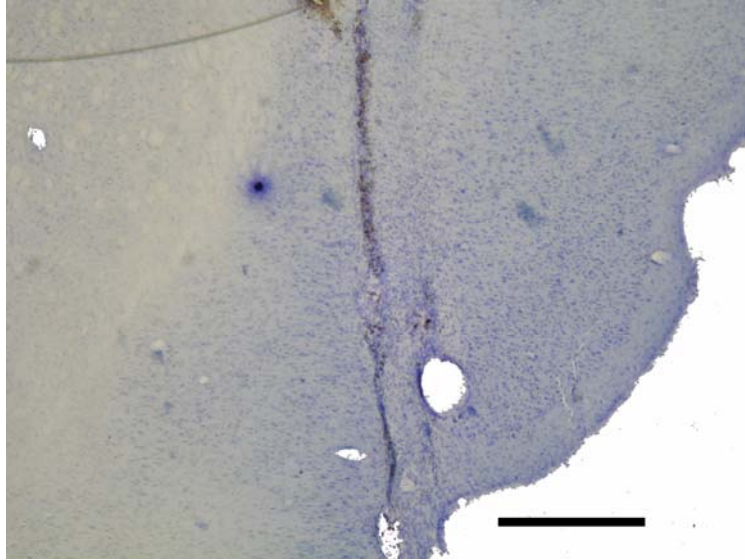


**Figura 21. Grupo LTP.** En esta grafica se muestran la pendiente de los PPSEs medidos en la vía Bla-CI de el grupo LTP. Se tomaron veinte minutos de línea base previa a la estimulación, con una frecuencia de 0.05 Hz (un pulso cada 20 segundos). Posteriormente se aplicaron 10 trenes de 100 Hz durante un segundo cada 20 segundos (flecha). Los cuadros negros representan la media  $\pm$  desviación estándar del porcentaje de la pendiente de los PPSEs con respecto a la línea base. La línea base es la media de los PPSEs medidos antes de la inducción de los trenes (100%). Posterior a los trenes de alta estimulación, se registró durante una hora mas (60 min.) para observar los cambios en la eficiencia sináptica debido a la estimulación.



### 6.3. Histológicos.

Los datos histológicos mostraron que el electrodo de estimulación y el de registro estuvieron correctamente colocados en el Bla y en la corteza insular respectivamente en todas las ratas que fueron sometidas a la fase electrofisiológica.



**Figura 16. Corteza insular.** La imagen muestra un corte coronal del cerebro de rata. Se puede apreciar la ubicación del electrodo de estimulación en el área de la corteza insular agranular. Escala = 1mm.



**Figura 16. Núcleo basolateral amigdalino.** La imagen muestra un corte coronal del cerebro de rata. Se puede apreciar la ubicación del electrodo de registro en el área del núcleo basolateral amigdalino. Escala = 1mm.

## 7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Parte del estudio del aprendizaje y la memoria desde la perspectiva de las neurociencias se encuentra enfocado en el “como” se almacena la información en el sistema nervioso. Entre los métodos que los investigadores han utilizado para dar respuesta a esta cuestión se encuentra la aproximación electrofisiológica al estudio de la memoria, dentro de la cual se ha observado que se aprecia actividad eléctrica neuronal durante los procesos relacionados con el almacenamiento de la información (Tagametz y Horwitz, 2000). También se ha descrito que la activación eléctrica dependiente del aprendizaje se encuentra distribuida dependiendo de la modalidad sensorial y el tipo de información que se este almacenando (Lynch, 2004). Como ya hemos mencionado, se han encontrado coincidencias de mecanismos entre los cambios provocados por la memoria y fenómenos plásticos como la LTP o la LTD (Malenka y Bear, 2004). Incluso se ha reportado que en ciertas tareas conductuales se observan modificaciones en la eficiencia sináptica y que, hipotéticamente, esta modificación en la eficiencia sináptica provoca una diferencia en el momento que es reactivada dicha vía (evocación) convirtiéndose en el sustrato electrofisiológico del almacenamiento de la información del evento que provocó el cambio en la eficiencia sináptica (Rogan et al., 1997; Makernnan y Shinick-Gallagher, 1997) Sin embargo los cambios electrofisiológicos que subyacen al aprendizaje y la memoria no han sido del todo esclarecidos.

En este trabajo se muestra que el entrenamiento en el condicionamiento aversivo a los sabores previene la inducción subsecuente de potenciación a largo plazo en la corteza insular. En estudios previos de nuestro laboratorio, se mostró que la inducción de LTP en la corteza insular previa al entrenamiento al CAS, aumenta la retención de este condicionamiento (Escobar et al., 2000). Lo anterior muestra que un cambio plástico en una vía relacionada con la memoria gustativa modifica la retención de la memoria en una tarea conductual. Tanto los resultados del 2000 como los ahora presentados sugieren una coincidencia entre los mecanismos que subyacen a la LTP en la corteza insular y al CAS.

Los resultados aquí presentados son consistentes con los mostrados por Rioult-Pedotti en 2000 y por Quinlan et al. en 2004, donde se observó una modificación en la LTP neocortical (corteza motora y corteza olfativa, respectivamente) debido al entrenamiento previo de los sujetos en una tarea conductual (Rioult-Pedotti et al., 2000; Quinlan et al., 2004). Las dos investigaciones mencionadas junto con la nuestra muestran que existe una estrecha relación entre la conducta y la LTP localizada en diferentes áreas del sistema nervioso. Asimismo, enfatizan la coincidencia de los mecanismos celulares que subyacen a ambos fenómenos.

También es importante tomar en cuenta el tipo de información que lleva la vía que va del núcleo basolateral de la amígdala a la corteza insular. Se ha demostrado que la inactivación de la amígdala poco antes del estímulo gustativo no afecta al CAS, mientras que la inactivación de este núcleo después del estímulo gustativo o antes del estímulo aversivo impide la inducción de este condicionamiento (Gallo et al, 1992). También se ha observado que existe un aumento de actividad glutamatérgica debido al CAS, medido tanto en la amígdala como en la corteza insular. Estos datos nos sugieren que el estímulo gustativo no “ingresa” a la corteza insular a través de la vía amígdalo-cortical, mientras que el estímulo visceral sí lo hace (Bermudez-Rattoni et al. 2004). Lo anterior nos interesa porque, a diferencia de los resultados anteriormente descritos en la corteza somatosensorial, y la corteza olfativa, la vía que se está modificando no es la vía que lleva el estímulo sensorial hasta su último relevo, sino que se trata de una vía que está relacionada con la entrada de información de tipo emocional (Ledoux, 1993). Probablemente esta vía, que está relacionada con el estímulo aversivo, es modificada en el CAS, esto produce un cambio en el umbral para la inducción de LTP. Esta hipótesis es congruente con el hecho de que las ratas que se entrenaron en el CAS a las cuales no se les presentó el estímulo aversivo presentaron una inducción de la LTP en forma normal, y, de acuerdo con los resultados observados por Escobar et al. en el 2000, cuando se modifica electrofisiológicamente dicha vía se ve afectada la retención del CAS, lo cual nos hace pensar en la importancia que tiene dicha conexión para esta conducta.

Pero ¿cómo es la modificación producida por el CAS sobre la inducción subsecuente de LTP?. Los trabajos de Rioult-Pedotti et al. en el 2000 y de Quinlan et al. en 2004 sugieren que la conducta produce un efecto metaplástico en las vías que están relacionadas con dicha conducta, tanto en la corteza motora como en la olfativa (Rioult-Pedotti et al., 2000; Quinlan et al., 2004). Siendo que la vía Bla-CI participa en el condicionamiento aversivo a los sabores y que los dos fenómenos se modifican mutuamente cuando se presenta uno después de otro, lo cual nos está indicando que los dos fenómenos utilizan la misma maquinaria biológica para ejercer sus acciones, podemos pensar que la tarea conductual modificó el umbral  $\theta_m$  en la vía Bla-CI y que ésta tiene mecanismos similares a los fenómenos metaplásticos provocados por la conducta reportados en otras áreas neocorticales.

Entre los resultados de nuestra investigación encontramos que el efecto producido por el CAS sobre la LTP se mantiene durante por lo menos 120 horas después de concluida la fase conductual. Este resultado es consistente con lo observado por Schroeder y Shinnick-Gallagher en 2005, donde el condicionamiento al miedo bloqueó la inducción de LTP en la amígdala lateral hasta diez días después del condicionamiento al miedo (Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005). Ambos resultados muestran cambios metaplásticos que son mantenidos por días debido al entrenamiento en una tarea conductual. Huang et al. en 1992 mostraron que el efecto metaplástico es temporal, ya que 90 minutos después de que se presenta la modificación metaplástica, se pudo inducir la LTP de forma normal. La diferencia de ventanas temporales comparando la investigación de Huang et al. en 1992 con la de Schroeder y Shinnick-Gallagher en 2005 y la que aquí se está presentando no es contradictoria. La preparación de Huang et al. fue *in vitro*, mientras que las otras dos investigaciones fueron *in vivo*. Los cambios plásticos *in vivo* no dependen únicamente de las propiedades biofísicas de las neuronas individualmente, si no que el mantenimiento de los cambios en la plasticidad depende de la red que forma parte la vía que se está utilizando, por lo tanto, creemos que los cambios dependientes de la actividad *in vivo* son sostenidos

por toda la red neuronal que se encuentra ligada tanto a estas proyecciones como a la conducta misma.

En el presente trabajo se muestra que cuando los animales consumen sacarina y diez minutos después se les administra una inyección de LiCl, se produce un cambio en la posibilidad de inducir plasticidad sináptica subsecuente. De manera análoga, el condicionamiento al miedo produce cambios en la posibilidad de inducir LTP en la amígdala lateral (Schroeder y Shinnick-Gallagher, 2005) y recientes estudios de Rattiner et al. demuestran que el estímulo aversivo administrado solo no produce cambios ni en la respuesta conductual ni en la eficiencia sináptica de la amígdala lateral (Rattiner et al., 2004). De manera similar, estudios realizados por Mickley et al. demuestran que durante el entrenamiento en el CAS, no se observan diferencias significativas entre grupos de ratas a las cuales sólo se les inyecta LiCl durante la sesión de adquisición y los animales a los cuales sólo se les administra sacarina en dicha sesión, es decir, no se encontraron diferencias con respecto al consumo de sacarina durante la prueba de aversión entre los dos grupos (Mickley et al., 2000), lo cual subraya que el LiCl no produce cambios en la conducta por sí solo. Asimismo, la administración de LiCl, tanto en ratas anestesiadas como en ratas despiertas, induce cambios electrofisiológicos en el Bla, sin que se registren cambios en las propiedades electrofisiológicas en la CI (Bermudez-Rattoni, 2004), lo que sugiere que la asociación entre los dos estímulos es lo que provoca el efecto metaplástico mostrado en este proyecto. Sin embargo, se necesita investigar este punto para descartar la posibilidad de que el consumo de LiCl afecte la posibilidad de inducir cambios plásticos subsecuentes.

Se ha reportado que las ratas presentan aversión al sabor aun cuando han pasado días después de la asociación entre el sabor y el malestar gástrico (Ferreira et al., 2002) de manera similar a la duración del efecto metaplástico que se presenta en este estudio. Esto nos hace pensar que el efecto producida por el CAS sobre la posibilidad de inducir subsecuentes cambios en la eficiencia sináptica se encuentra relacionado con un mecanismo homeostático que modula las respuestas futuras del núcleo Bla a la CI, modificando de esta forma la respuesta neuronal (y al fin y al cabo conductual) ante la repetición de

la misma sucesión de estímulos que produjeron el CAS. En este estudio se muestra que los cambios en las propiedades eléctricas de la corteza insular debido a la conducta se mantienen por un periodo hasta de cinco días, lo cual muestra que la permanencia en los cambios eléctricos tiene una correspondencia con la permanencia de los cambios en la conducta.

### **Posibles mecanismos**

En la investigación reportada por Escobar et al. en 1998 se comprobó que la LTP en la corteza insular es dependiente de los receptores NMDA (Escobar et al., 1998a). Por otro lado, los estudios de Quinlan et al. en el 2004 muestran que el cambio metaplástico que se presenta en la corteza olfativa es dependiente de la cantidad de subunidad del rNMDA (NR2A o NR2B) (Quinlan et al., 2004). Asimismo se ha encontrado que la proporción de las subunidades del receptor NMDA, esta relacionada con una modificación en el umbral  $\theta_m$  de forma similar que en la corteza olfativa (Errger et al., 2005; Philpot et al., 2001). Esto nos hace pensar que el efecto metaplástico que se presenta en la corteza insular puede deberse a un cambio en la proporción de los receptores NMDA. De ser de este modo, se esperaría que el entrenamiento en el CAS provocara un aumento en la subunidad NR2A en comparación de la subunidad NR2B, lo cual dificultaría la inducción de la LTP. Esta hipótesis debe de ser probada infundiendo bloqueadores de las subunidades del rNMDA. Por otro lado, si este efecto es un efecto metaplástico debe de encontrarse que es reversible.

Se ha reportado en otras zonas neocorticales que el cambio en la proporción de las subunidades del rNMDA, NR2b y NR2a persiste por lo menos 48 horas después de una tarea de aprendizaje (Quinlan et al. 2004). Probablemente la persistencia de las acciones del CAS sobre la inducción subsecuente de la LTP aquí reportada se correlacione con la permanencia del cambio en la proporción de las subunidades del rNMDA.

Como ya hemos mencionado, la inducción de LTP en la corteza insular aumenta la retención del CAS y el entrenamiento previo en el CAS modifica la subsecuente inducción de LTP en la corteza insular, ¿cuál es la interacción entre estos dos fenómenos? y ¿por qué se observa un aumento y

no una disminución de la retención del CAS?. El condicionamiento aversivo a los sabores tiene una fase de adquisición, donde el sujeto aprende que el malestar gástrico está asociado con el sabor dulce de la sacarina, mientras que en la fase de extinción el sujeto aprende, a medida que pasan las pruebas de extinción, que el sabor no está asociado con el malestar gástrico, por lo que aumenta el consumo del mismo. La inducción previa de plasticidad en la vía que va del núcleo basolateral amigdalino hacia la corteza insular modifica la retención, pero no se conoce de qué forma afecta específicamente a los circuitos neuronales encargados de la memoria del CAS. La investigación que aquí presentamos, junto con la presentada en el 2000, muestran que existe una coincidencia de mecanismos entre estos dos fenómenos y pensamos que de alguna manera durante la inducción de plasticidad sináptica en la vía Bla-CI, se presenta un cambio en el umbral para producir plasticidad sináptica y esto modifica la retención del CAS, ya que los cambios plásticos necesarios para que la extinción suceda de forma tradicional, no pueden darse de la misma forma que en un CAS normal. De la misma forma pensamos que el umbral  $\theta_m$  es modificado debido al entrenamiento al CAS, lo cual produce el efecto presentado en este trabajo de investigación, lo cual explica que el CAS afecte a la LTP y la LTP afecte al CAS.

Estos datos nos hacen pensar que la LTP y la memoria, además de tener coincidencia de mecanismos, son afectados de manera muy similar por la historia de actividad de la vía que se está modificando. Esto nos sugiere que en el almacenamiento de la información en el sistema nervioso intervienen cambios en la eficiencia sináptica, como los observados en la LTP y la LTD.

### **Conducta y LTP.**

¿La memoria implica cambios, tanto en la eficiencia sináptica como morfológicos, similares a los observados en la LTP?. Esta es una cuestión a la cual muchos laboratorios en el mundo estamos tratando de dar respuesta. Se ha propuesto que mecanismos similares a los de la LTP subyacen a los cambios en la memoria. (Geinisman et al., 1993). Las coincidencias que tienen estos dos fenómenos incluyen incrementos en el número de sinapsis por

neurona (Jones et al 1997), incrementos en la eficiencia sináptica (Rioult-Pedotti 2000, Rogan et al., Mckerman y Shinnik-Gallager), así como cambios en un buen número de proteínas. Por ejemplo, se ha reportado un incremento en los receptores NMDA (Bliss y Collingridge, 1993) así como cambios en la proporción de sus subunidades (Perez-Otaño y Ehlers, 2005), dependencia de los receptores metabotrópicos glutamatérgicos (Jia et al 2001), expresión de CAMkII (Mayford et al. 1996) y CaMkIV (Kang et al 2001), expresión de CREB (Bortzchuladze et al, 1994) y genes de expresión temprana como Zif (Jones et al., 2001), proteínas presinápticas como la sinaptofisina (Janz et al., 1999) y Gap43 (Routtenberg et al 2000) así como moléculas estructurales como las NCAM (Bliss et al., 2000) y las integrinas (Castren et al., 1993). El descubrimiento de todos estos mecanismos similares nos hace pensar que se están dilucidando la forma en la que los organismos almacenamos información en el sistema nervioso. Sin embargo no se ha dicho la última palabra. Lo que las investigaciones sugieren es que al construirse una nueva memoria tiene lugar una interacción de varios procesos (tanto hebbianos como no hebbianos) en las vías que se encuentran relacionadas con esa modalidad de memoria.

Resumiendo, nuestros resultados muestran que el entrenamiento en el CAS afecta la inducción subsecuente de la LTP en la corteza insular. Aunado a esto, el efecto del CAS sobre la LTP persiste hasta 120 horas después del condicionamiento. Por lo que los presentes resultados hacen pensar que la memoria del CAS comparte mecanismos celulares comunes con la LTP en la corteza insular. También hace pensar que el efecto producido por el CAS sobre la subsecuente inducción de LTP es un efecto metaplástico en el que el entrenamiento en el CAS modifica los umbrales de respuesta ante estímulos de alta frecuencia, probablemente mediante un cambio en la proporción de subunidades al receptor NMDA. Es de esperarse que siendo el CAS un condicionamiento tan importante a nivel filogenético, produzca cambios plásticos de carácter prolongado, por lo cual, los hallazgos del presente estudio nos acerca a entender de qué manera interactúan las neuronas para almacenar la información de un proceso tan importante filogenéticamente como lo es el condicionamiento aversivo a los sabores.



Finalmente, podemos decir que la memoria descansa en una gran variedad de cambios plásticos al interior del sistema nervioso, que estas “memorias” tienen mecanismos de almacenamiento, mantenimiento y recuperación y que depende tanto de la experiencia como del funcionamiento interno de dichas redes neuronales. Lo que no podemos aún saber es la forma en que *esta* memoria se almacena en *aquella* área, necesitaríamos conocer a la perfección la forma en la que interactúa el sistema nervioso para cada tipo de información, los cambios plásticos que intervienen en cada uno y los mecanismos pertinentes para cada modalidad sensorial o área del sistema nervioso. Estos cambios forman un complicado lenguaje que utilizan nuestras neuronas, el cual estamos aún lejos de entender. Descifrar el “código” que utiliza el sistema para almacenar información será la tarea de los neurocientíficos que, desde sus diferentes puntos de vista aportan una visión cada vez mas amplia del cómo funciona nuestro cerebro.

## 8. REFERENCIAS.

Abbott LF & Nelson SB, (2000) Synaptic plasticity: taming the beast. *Nature Neuroscience* 3 Suppl: 1178-83.

Abraham WC & Bear MF, (1996) Metaplasticity: The plasticity of synaptic plasticity. *Trends in Neuroscience* 19: 126-130.

Abraham WC & Huggett A, (1997) Induction and reversal of long-term potentiation by repeated high-frequency stimulation in rat hippocampal slices. *Hippocampus* 7 (2): 137-45.

Abraham WC & Tate WP, (1997) Metaplasticity: a new vista across the field of synaptic plasticity. *Progress in Neurobiology* 52 (4): 303-23

Abraham WC & Williams JM, (2003) Properties and mechanisms of LTP maintenance. *The Neuroscientist* 9 463- 474.

Artola A & Singer W, (1990) The involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in induction and maintenance of long term potentiation in rat visual cortex. *European Journal of Neuroscience* 2: 254-269.

Ascher P & Nowark L, (1988) The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurons in culture. *Journal of Physiology* 399: 247-266.

Bailey CH, Giustteton M, Huang Y, Hawkins RD & Kandel ER, (2000) Is heterosynaptic modulation essential for stabilizing hebbian plasticity and memory?. *Nature Reviews Neuroscience* 1: 11-20.

Bear MF, (1996) A synaptic basis for memory storage in the cerebral cortex. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 93 (24): 13453-13459.

Bear MF, (2003) Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* 358 (1432): 649-55.

Bear MF & Kirkwood A, (1993) Neocortical long-term potentiation. *Current Opinion in Neurobiology* 3: 197-202.

Bear MF, Connors B & Paradiso M, (2001) Neuroscience: Exploring the Brian. *Williams & Wilkins* Baltimore EUA.

Bekkers J & Stevens C, (1990) Origin of variability in quantal size in cultured hippocampal neurons and hippocampal slices. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 87 (14): 5359-5362.

Bermúdez-Rattoni F & Yamamoto T, (1998) Neuroanatomy of CTA: lesions studies. En Bures J, Bermúdez-Rattoni F & Yamamoto T, *Conditioned Taste Aversion*. Oxford Science Publication, USA. pp 27- 40.

Bermúdez-Rattoni F & McGaugh JL, (1991) Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition of inhibitory avoidance and conditioned aversion. *Brain Research* 549: 165-170.

Bermúdez-Rattoni F (2004) Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nature Reviews Neuroscience* 5: 209-217.

Bienenstock EL, Cooper LN & Munro PW, (1982) Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *Journal of Neuroscience* 2 (1): 32-48.

Bliss TV & Lømo TVP, (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology* 232: 331-356.

Bliss TV & Collingridge GL, (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31–39.

Bliss TV, Errington M, Fransen E, Godfraind JM, Kauer JA, Kooy RF, Maness PF & Furley AJ, (2000) Long-term potentiation in mice lacking the neural cell adhesion molecule L1. *Current Biology* 10: 1607–1610.

Bourtchuladze R, Frenguelli B, Blendy J, Cioffi D, Schutz G & Silva AJ, (1994) Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell* 79: 59–68.

Bures J & Buresova O, (1989) Conditioned taste aversion elicited by intracerebral administration of drugs. *Acta Physiologica Hungaricae* 74: 77–93.

Bradley RM & Mistretta CM, (1971) Intravascular taste in rats as demonstrated by conditioned aversion to sodium saccharin. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 75 (2): 186–189.

Calabresi P, Napolitano M, Centonze D, Marfia GA, Gubellini P, Teule MA, Berretta N, Bernardi G, Frati L, Tolu M & Gulino A, (2000) Tissue plasminogen activator controls multiple forms of synaptic plasticity and memory. *European Journal of Neuroscience* 12: 1002–1012.

Castren E, Pitkanen M, Sirvio J, Parsadanian A, Lindholm D, Thoenen H & Riekkinen PJ, (1993) The induction of LTP increases BDNF and NGF mRNA but decreases NT-3 mRNA in the dentate gyrus. *Neuroreport* 4: 895–898.

Christie BR, Stellwagen D & Abraham WC, (1995) Reduction of the threshold for long-term potentiation by prior theta-frequency synaptic activity. *Hippocampus* 5: 52-59.

Clugnet MC, Ledoux JE, & Morrison SF, (1990) Unit responses evoked in the amygdala and striatum by electrical stimulation of the medial geniculate body. *Journal of Neuroscience* 10: 1055–1061.

Cohen AS & Abraham WC, (1996) Facilitation of long-term potentiation by prior activation of metabotropic glutamate receptors. *Journal of Neurophysiology* 76: 953-962.

Collingridge GL, Kehl SJ & McLennan H, (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus *Journal of Physiology* 334: 33-46.

Cooper LN, Liberman F & Oja E, (1979) A theory for the acquisition and loss of neuron specificity in visual cortex. *Biological Cybernetics* 33 (1): 9-28.

Debanne D, Gähwiler BH & Thompson SM, (1996) Cooperative interactions in the induction of long-term potentiation and depression of synaptic excitation between hippocampal CA3-CA1 cell pairs in vitro. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 93 (20): 11225-11230.

Derrick BE, Weinberger SB, & Martínez JL Jr., (1991) Opioid receptors are involved in a NMDA receptor-independent mechanism of LTP induction at hippocampal Mossy Fiber-CA3 Synapses *Brain Research Bulletin* 27: 219-233.

Domjan M, (1985) Cue-consequence specificity and long delay learning revisited. *Annals of the New York Academy of Sciences* 443: 57-66.

Doyere V, Srebro B & Laroche S, (1997) Heterosynaptic LTD and depotentiation in the medial perforant path of the dentate gyrus in the freely moving rat. *Journal of Neurophysiology* 77 (2): 571-578.

Dunn L & Everitt B, (1988). Double dissociations of the effects of amygdala and insular cortex lesions on conditioned taste aversion, passive avoidance and neophobia in the rat using the excitotoxin ibotenic acid. *Behavioral Neuroscience* 102 (1): 3-23.

Eichenbaum H, (1997) To Cortex: Thanks for the Memories. *Neuron* 19: 481-484.

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

Erreger K, Dravid SM, Banke TG, Wyllie DJ & Traynelis SF, (2005) Subunit specific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles. *Journal of Physiology (London)* 563: 345–358.

Escobar ML, Fernández J, Guevara-Aguilar R & Bermúdez-Rattoni F, (1989) Fetal brain grafts induce recovery of learning deficits and connectivity in rats with gustatory neocortex lesion. *Brain Research* 478: 368-374.

Escobar ML, Barrea-Rodríguez E, Derrick B, Reyes J & Martínez J, (1997) Opioid receptor modulation of mossy fiber synaptogenesis: independence from long-term potentiation. *Brain Research* 751: 330-335.

Escobar ML, Chao V & Bermúdez-Rattoni F, (1998a) In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Research* 779: 314-319.

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

Escobar ML, & Bermúdez-Rattoni F, (2000) Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research* 852: 208-212.

Escobar ML, Alcocer I & Bermúdez-Rattoni F, (2002) In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behavioral Brain Research* 129: 101-106.

Feldman RS & Quenzer LF, (1984) Fundamentals of neuropsychopharmacology., *Sinauer Associates* Sunderland, Mass.

Ferreira G, Gutierrez R, De La Cruz V & Bermudez-Rattoni F, (2002) Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *European Journal of Neuroscience* 16 1139–1145.

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

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

García J & Koelling Y, (1966) Relation of cue to consequence in avoiding learning. *Psychonomic Science* 4: 123-124.

García J, Lasiter PS, Bermudez R & Deems DA, (1985) A general theory of aversion learning. *Annals of the New York Academy of Sciences* 443: 8-21.

Geinisman Y, DeToledo-Morrell L, Morrell F, Heller RE, Rossi M & Parshall RF, (1993) Structural synaptic correlate of longterm potentiation: formation of axospinous synapses with multiple, completely partitioned transmission zones. *Hippocampus* 3: 435–445.

Glazewski S, Bejar M, Mayford M & Fox K, (2001) The effect of autonomous alpha CamKII expression on sensory responses and experience-dependent plasticity in mouse barrel cortex. *Neuropharmacology* 41: 771-778.

Hagiwara M, Brindle P, Harootunian A, Armstrong R, Rivier J & Vale W, (1993) Coupling hormonal stimulation and transcription via the cyclic AMP-responsive factor CREB is rate limited by nuclear entry of protein kinase A. *Molecular Cell Biology* 13: 4852-4859.

Harris EW, Ganong AH & Cotman CW, (1984) Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Research* 323 (1): 132-137.

Hirsch JC & Crepel F, (1990) Use-dependent changes in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro. *Journal of Physiology* 427: 31-49.

Huang YY, Colino A, Selig DK, & Malenka RC, (1992) The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science* 255: 730-733.

Jahr CE, & Stevens CF, (1987) Glutamate activates multiple single channel conductances in hippocampal neurons. *Nature* 325 (6104): 522-525.

Janz R, Sudhof TC, Hammer RE, Unni V, Siegelbaum SA & Bolshakov VY, (1999) Essential roles in synaptic plasticity for synaptogyrin I and synaptophysin I. *Neuron* 24: 687-700.

Jedlicka P, (2002) Synaptic plasticity, metaplasticity and bcm theory. *Bratisl Lek Listy* 103 (4-5): 137-143.

Jia Z, Lu YM, Agopyan N & Roder J, (2001) Gene targeting reveals a role for the glutamate receptors mGluR5 and GluR2 in learning and memory. *Physiology & Behavior* 73: 793-802.

Jones MW, French PJ, Bliss TV & Rosenblum K, (1999). Molecular mechanism of long-term potentiation in the insular cortex in vivo. *Journal of Neuroscience* 19 (21): 1-8.

Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss TV, Garel S, Charnay P, Bozon B, Laroche S & Davis S, (2001) A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nature Neuroscience* 4: 289-296.

Jones TA, Klintsova AY, Kilman VL, Sirevaag AM & Greenough WT, (1997) Induction of multiple synapses by experience in the visual cortex of adult rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 68: 13-20.

Kandel E & Hawkins R, (1992) Bases biológicas del aprendizaje y la individualidad. *Investigación y Ciencia* 49-57.

Kang H, Sun LD, Atkins CM, Soderling TR, Wilson MA & Tonegawa S, (2001) An important role of neural activity-dependent CaMKIV signaling in the consolidation of long-term memory. *Cell* 106: 771–783.

Kennedy MB & Marder EM, (1992) Cellular and molecular mechanisms of neuronal plasticity. *Introduction to molecular neurobiology Ed by Hall ZW*. Massachusetts: Sinauer Associates INC.

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

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

Kirkwood A, Rioult MC & Bear MF, (1996) Experience-dependent modification of synaptic plasticity in visual cortex. *Nature* 6; 381 (6582): 526-528.

Komatsu Y, Fujii K, Maedan J, Sakaguchi H & Tomaya K. (1988) Long-term potentiation of synaptic transmission in kitten visual cortex. *Journal of Neurophysiology* 59: 24-141.

Lamprecht R, Hazvi S, & Dudai Y, (1997) cAMP response element binding protein in the amygdala is required for long but not short-term conditioned taste aversion memory. *Journal of Neuroscience* 17: 8443-8450.

Lasiter PS, Glanzman DL & Mensah PA, (1982) Direct connectivity between pontine taste areas and gustatory neocortex in rat. *Brain Research* 234: 111-121.

Lasitier PS, Deems DA, Oetting RL & Garcia J, (1985) Taste discriminations in rats lacking anterior insular gustatory neocortex. *Physiology & Behavior* 35:277-285.

LeDoux JE, (1993) Emotional memory system in the brain. *Behavioral Brain Research* 58: 69-79.

Lee SM, Weisskopf MG & Ebner FF, (1991) Horizontal long-term potentiation of responses in rat somatosensory cortex. *Brain Research* 544: 303-310.

Lynch MA, (2004) Long-Term Potentiation and Memory. *Physiological Reviews* 84: 87-136.

Losi G, Prybylowski K, Fu Z, Luo JH & Vicini S, (2002) Silent synapses in developing cerebellar granule neurons. *Journal of Neurophysiology* 87: 1263–1270.

Malenka RC, Kauer JA, Mauk MD & Kelly PT, (1989) An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long term potentiation. *Nature* 340 (6234): 554-557.

Malenka RC, (1991) Postsynaptic factors control the duration of synaptic enhancement in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 6:53-60.

Malenka RC & Nicoll RA, (2003) NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanism. *Trends in Neuroscience* 16: 521-527.

Malenka R & Bear M, (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44 (1): 5-21.

Mayford M, Bach ME, Huang YY, Wang L, Hawkins RD, & Kandel ER, (1996) Control of memory formation through regulated expression of a CaMKII transgene. *Science* 274: 1678–1683.

McDermott AB, Mayer ML, Westbrook GL, Smith SJ & Barker JL, (1986) NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurons. *Nature* 321 (6069): 519-522.

McGaugh JL, Introini-Collison IB, Nagahara AH, Cahill L, Brioni JD & Castellano C, (1990) Involvement of the amygdaloid complex in neuromodulatory influences on memory storage. *Neuroscience Behavioral Review* 14 (4): 425-431.

McGowan B, Hankins WG & García J, (1972) Limbic lesions and control of the internal and external environment. *Behavior and Biology* 7: 841-852.

McKernan, MG. & Shinnick-Gallagher, P. (1997). "Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro." *Nature*, 390 (6660): 607-611.

Mickley GA, Remmers-Roeber DR, Crouse C & Peluso R, (2000) Ketamine blocks a taste-mediated conditioned motor response in perinatal rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 66:547–552.

Milner B, Squire LR & Kandel ER, (1998) Cognitive Neuroscience and the Study of Memory. *Neuron* 20: 445-468.

Monfils MH & Teskey GC, (2004) Skilled-learning-induced potentiation in rat sensorimotor cortex: a transient form of behavioral LTP. *Neuroscience* 125: 329-336.

Moser EI, Krobot KA, Moser M-B & Morris RGM, (1998) Impaired spatial learning after saturation of long-term potentiation. *Science* 281:2038-2042.

Muellbacher W, Ziemann U, Boroojerdi B, Cohen LG & Hallett M, (2001) Role of the human motor cortex in rapid motor learning. *Experimental Brain Research* 136:431–438.



Nguyen PV, Abel T & Kandel ER, (1994) Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science* 265: 1104–1107.

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

Norgren R & Leonard CM, (1971) Taste pathways in rat brainstem. *Science* 173: 1136–1139.

Norgren R & Leonard CM, (1973) Ascending central gustatory pathways. *The Journal of Comparative Neurology* 150: 217–237.

Paxinos G, & Watson C, (1995) *The Rat Brain in the stereotaxic coordinates*. Academic Press Orlando FL.

Pérez-Otaño I & Ehlers MD, (2005) Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends in Neuroscience* 28(5): 229-238.

Philpot BD, Sekhar AK, Shouval HZ & Bear MF, (2001) Visual experience and deprivation bidirectionally modify the composition and function of NMDA receptors in visual cortex. *Neuron* 29:157–169.

Pritchard TC, Hamilton RB, Morse JR & Norgren R, (1986) Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the monkey, *Macaca fascicularis*. *The Journal of Comparative Neurology* 244: 213 -228

Quinlan EM, Lebel D, Brosh I & Barkai E, (2004) A molecular mechanism for stabilization of learning-induced synaptic modifications. *Neuron* 41: 185-192.

Rattiner LM, Davis M, French CT & Ressler KJ, (2004) Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B involvement in amygdala-dependent fear conditioning. *Journal of Neuroscience* 24: 4796-4806

Reutter K & Witt M, (1993) Morphology of vertebrate taste organs and their nerve supply. En: *Simon SA, Roper SD, editors. Mechanisms of taste transduction*. Boca Raton: CRC Press. pp. 29-82

Riegler A, (2005) Constructive memory. *Kybernetes* 34: 89-104.

Rioult-Pedotti MS, Friedman D, Hess G & Donoghue JP, (1998) Strengthening of horizontal cortical connection following skill learning. *Nature Neuroscience* 1(3): 230-234.

Rioult-Pedotti MS, Friedman D & Donoghue J.P, (2000) Learning-induced LTP in neocortex. *Science* 290: 533-536.

Roberts LA, Large CH, O' Shaughnessy CT & Morris BJ, (1997) Long term potentiation in perforant path/granule cell synapses is associated with a post-synaptic induction of proenkephalin gene expression. *Neuroscience Letters* 227 (3): 205-208.

Rogan MT, Staubli UV & LeDoux JE, (1997) Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390 (6660): 604-607.

Routtenberg A, Cantalops I, Zaffuto S, Serrano P & Namgung U, (2000) Enhanced learning after genetic overexpression of a brain growth protein. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 97: 7657–7662.

Schroeder BW & Shinnick-Gallagher P, (2005) Fear learning induces persistent facilitation of amygdala synaptic transmission. *European Journal of Neuroscience* 22: 1775-1783.

Stanton PK, Winterer J & Müller W, (2005) Imaging LTP of presynaptic release of FM1-43 from the rapidly-recycling vesicle pool at Schaffer collateral-CA1 synapses in hippocampal slices. *European Journal of Neuroscience* 22: 2451-2461.

Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R & Classen J, (2000) Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain Research* 123:572–584.

Sutton MA, Wall NR, Aakalu GN & Schuman EM, (2004) Regulation of dendritic protein synthesis by miniature synaptic events. *Science* 304:1979–1983.

Tagamets MA & Horwitz B, (2000) A model of working memory: Bridging the gap between electrophysiology and human brain imaging. *Neural Networks* 13: 941–952.

Toni N, Bucks PA, Nikonenko I, Bron CR & Muller D (1999) LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402: 421-425.

Travers SP, (1993) Orosensory processing in neural systems of the nucleus of the solitary tract. en S.A. Simon y S.T. Roper (Eds.) *Mechanisms of Taste Transduction*. CRC Press: USA. pp. 339-394.

Tsumoto T, (1992) Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Progress in Neurobiology* 39: 209-228.

Turrigiano GG & Nelson SB, (2000) Hebb and Homeostasis in Neuronal Plasticity. *Current Opinion in Neurobiology* 10: 358-364.

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

Weiner I, Tarrasch R, Hasson O, Forian R, Smith AD, Rawlins JN & Feldon J, (1994) The effects of chronic administration of ceronapril on the partial reinforcement extinction effect and latent inhibition in rats. *Behavioural Pharmacology* 5: 306-314.

Wells DG & Fallon JR, (2000) In search for molecular memory: experience-driven protein synthesis. *Cellular and Molecular Life Science* 57: 1335-1339.

Wolters A, Sandbrink F, Schlottmann A, Kunesch E, Stefan K, Cohen LG, Benecke R & Classen J, (2003) A temporally asymmetric Hebbian rule governing plasticity in the human motor cortex. *Journal of Neurophysiology* 89:2339–2345.

Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Azuma, S., Bai, WZ., & Wakisaka, S. (1992). "C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride." *Neuroreport*, 3: 1049-1052.

Yasoshima, Y. & Yamamoto, T. (1997). "Rat gustatory memory requires protein kinase C activity in the amygdala and cortical gustatory area." *NeuroReport*, 8: 1363-1367.

Yasoshima Y, Morimoto T & Yamamoto T, (2000) Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Research* 869 15-24.

Zakharenko SS, Patterson SL, Dragatsis I, Zeitlin SO, Siegelbaum SA & Kandel ER, (2003) Presynaptic BDNF required for a presynaptic but not post synaptic component of LTP at hippocampal CA1-CA3 synapses. *Neuron* 39: 975-990.

Ziemann U, Iliac TV, Pauli C, Meintzschel F & Ruge D, (2004) Learning modifies subsequent induction of long term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *The Journal of Neuroscience* 24 (7):1666-1672.