

Los mecanismos pre y postsinápticos que intervienen en la inducción y mantenimiento de la potenciación a largo plazo

César Casasola*
Simón Brailowsky*

Summary

Changes in the strength of the synaptic connections is critical to many aspects of the nervous system physiology, included learning, memory (24, 34, 40), and some neuropathologies. A model that displays a long term modification of synaptic responses, therefore, presents us with an opportunity to analyze the plastic and adaptive mechanism of the nervous system to various influences, such as the effect of certain psychiatric drugs or to pathological conditions.

Long-term potentiation (LTP) is a useful model for the study of neural plasticity. It is generally agreed that LTP, defined as a long-lasting enhancement of synaptic transmission, has two phases: induction and maintenance. Several studies have suggested that the main mechanisms involved in the induction of LTP include the participation (mainly in CA1 and dentate area of the hippocampus) of both NMDA and non-NMDA types of glutamate receptors, of calcium, etc. The dynamics of these mechanisms may explain, at least in part, the main properties of LTP, viz., synapse specificity, cooperativity and associativity.

With respect to the maintenance phase, some scientists believe that it is exclusively presynaptic, while others believe that only postsynaptic mechanisms are involved. Recent experimental evidence suggests, however, that both presynaptic and postsynaptic components are involved.

Several investigations have shown that both induction and maintenance of LTP can be altered by various factors: by the administration of glutamatergic and GABAergic agonists or antagonists, by the anatomical site of stimulation as well as the parameters of stimulation, among others.

Of particular relevance to medical practice, it has been the demonstration that several drugs used in the psychiatric pharmacotherapy can modify LTP. LTP is also known to be changed in experimental models of epilepsy, and some cellular mechanisms important in LTP are altered while others are preserved in the brains of patients with neurodegenerative diseases, such as Alzheimer disease.

Since LTP is very important in the understanding of plastic mechanisms in the nervous system, this review provides several lines of evidence about the pre and postsynaptic mechanisms involved in the induction and maintenance of this interesting phenomenon.

Key Words: Potentiation, pre and postsynaptic mechanisms.

Resumen

La modificación en la fortaleza de las conexiones sinápticas es una variable crítica que contribuye en varios aspectos al funcionamiento del sistema nervioso, incluyendo al aprendizaje, a la memoria (24, 34, 40), y en algunas neuropatologías. Cualquier modelo que presente una modificación sostenida en la respuesta sináptica representa la posibilidad de analizar los mecanismos plásticos y adaptativos del sistema nervioso, así como el efecto de ciertas drogas de uso psiquiátrico sobre estos mecanismos o de sus características bajo condiciones patológicas.

La Potenciación a Largo Plazo (LTP, del inglés *Long-term potentiation*), se ubica actualmente como uno de los modelos más útiles de plasticidad neuronal. En general, existe el acuerdo de que la LTP, definida como un incremento de larga duración en la eficacia sináptica, presenta dos fases: inducción y mantenimiento. Diversos estudios han sugerido que los principales mecanismos que intervienen en la inducción de la LTP incluyen la participación (principalmente en el giro dentado y en el área CA1 del hipocampo) de los receptores tipo NMDA (N-metil-D-aspartato) y no-NMDA, del calcio, etc. La dinámica de estos mecanismos explica algunas de las características principales de la LTP: la especificidad sináptica, la cooperatividad y la asociatividad.

Con respecto a la fase de mantenimiento, hay controversia acerca de si los mecanismos responsables de la persistencia del fenómeno son exclusivamente presinápticos, postsinápticos o si comprenden a ambos sitios de la sinapsis (12), aunque, al parecer, esta última opción es la más viable.

En múltiples investigaciones se ha referido que la inducción o el mantenimiento de la LTP pueden verse alterados bajo diversas situaciones: ya sea por la presencia de agonistas o antagonistas del glutamato, del GABA, de la estructura anatómica donde se estudia o por los parámetros de estimulación eléctrica utilizada para la inducción.

En aspectos relacionados con la práctica clínica se ha señalado que la LTP puede modificarse por sustancias empleadas en la farmacoterapia psiquiátrica, en modelos experimentales de epilepsia, o que algunos de los mecanismos celulares importantes en la LTP se presentan alterados mientras que otros se preservan en el cerebro de pacientes con trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer.

Dada la relevancia de la LTP en el esfuerzo por comprender los mecanismos plásticos del SNC, la presente revisión ofrece una selección de las evidencias sobre los mecanismos pre y postsinápticos que intervienen en la inducción y el mantenimiento de tan interesante fenómeno, así como de la posible relación entre la LTP y algunas neuropatologías.

Palabras clave: Potenciación, mecanismos pre y postsinápticos.

* Depto. de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Potenciación a largo plazo

La LTP es uno de los fenómenos plásticos neurales que más atención ha recibido en los últimos años. A este fenómeno, que también es considerado como un modelo experimental de plasticidad sináptica, se le ha definido como un incremento de larga duración en la eficacia sináptica posterior a la estimulación eléctrica de alta frecuencia (19). Este fortalecimiento sináptico asociado a la LTP ha sido considerado como una posible base celular para ciertos tipos de aprendizaje y memoria asociativos en los mamíferos (37, 61). La LTP se observó inicialmente, *in vivo*, en las conexiones sinápticas excitatorias entre las aferentes de la vía perforante y las células granulares del giro dentado en el hipocampo de conejos (3, 31). Posteriormente, la LTP se ha descrito y se ha caracterizado en otras áreas del hipocampo, así como en otras regiones corticales tales como la corteza visual primaria, la corteza somatosensorial primaria, la corteza motora primaria, la corteza frontal (9), la corteza piriforme (26), etc.

En el giro dentado y en la región CA1 del hipocampo, se ha señalado a la persistencia, la especificidad sináptica, la cooperatividad y la asociatividad como las propiedades más importantes de la LTP (25, 47). La

persistencia se refiere al hecho de que la LTP puede durar de horas a días e incluso semanas. La *especificidad sináptica* se refiere a que no todas las sinapsis de una neurona o grupo de neuronas presentan el incremento: sólo lo hacen aquellas que son estimuladas por una activación presináptica de alta frecuencia. La *cooperatividad* señala que la magnitud del estímulo debe de estar por encima de cierto umbral de intensidad, lo cual implica que un número crítico de fibras presinápticas deben ser activadas simultáneamente para inducir la LTP (49, 64). La *asociatividad*, por su parte, indica que la actividad en una entrada sináptica lo suficientemente fuerte puede ayudar a generar una LTP en sinapsis de la misma célula activadas por una entrada débil (inicialmente incapaz de generar una LTP por sí misma) siempre y cuando la actividad en las dos entradas coincidan temporalmente (19, 41). Estas propiedades de la LTP se explican, en gran medida, por el importante requisito de una contigüidad entre la actividad presináptica y un estado de despolarización postsináptica (5, 41, 64). En este sentido, la LTP obedece la llamada regla de Hebb (22), en la cual la modificación sináptica sólo tiene lugar cuando la sinapsis está activa en una contigüidad temporalmente cercana con una actividad postsináptica fuerte (19) (fig. 1).

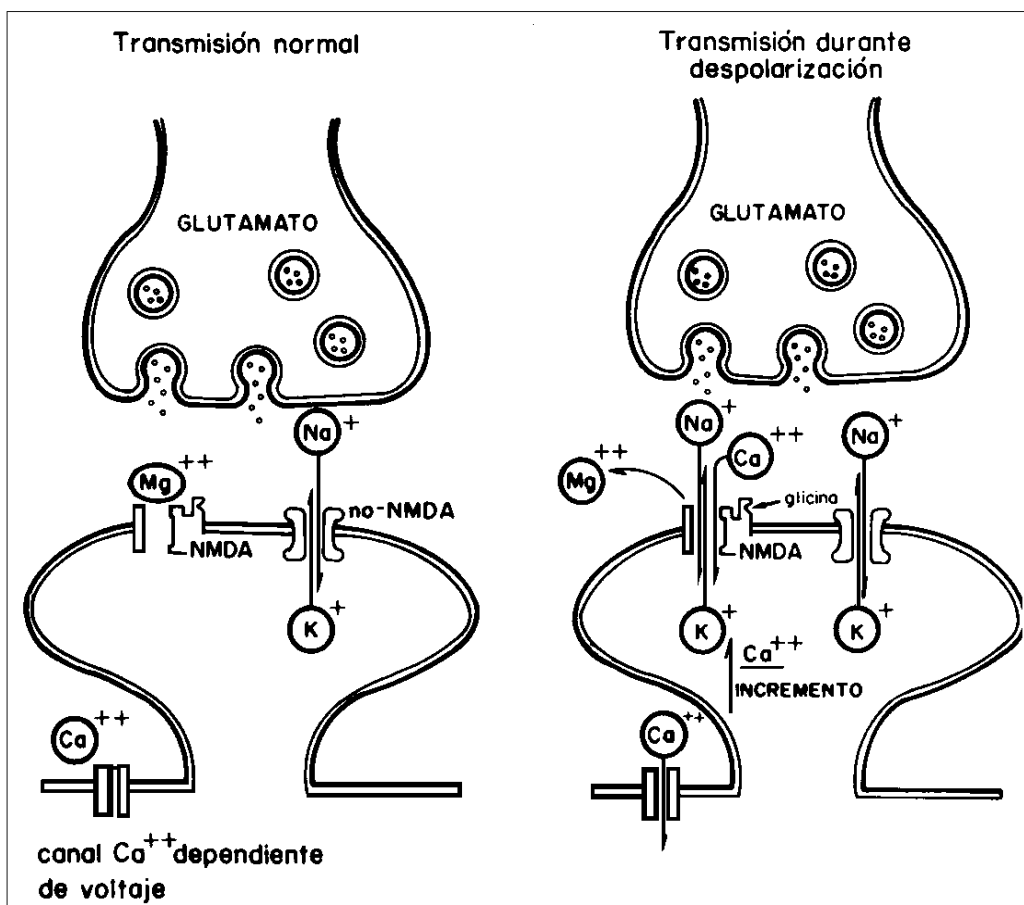


Figura 1. Inducción de la LTP: Representación de la actividad sináptica en la región CA1 del hipocampo durante la transmisión normal y cuando la membrana postsináptica está despolarizada, como ocurre durante una estimulación de alta frecuencia. Nótese que la despolarización libera al canal del receptor NMDA del bloqueo por el magnesio y la corriente de calcio a través de este canal. *Modificada de Nicoli y cols., 1988.*

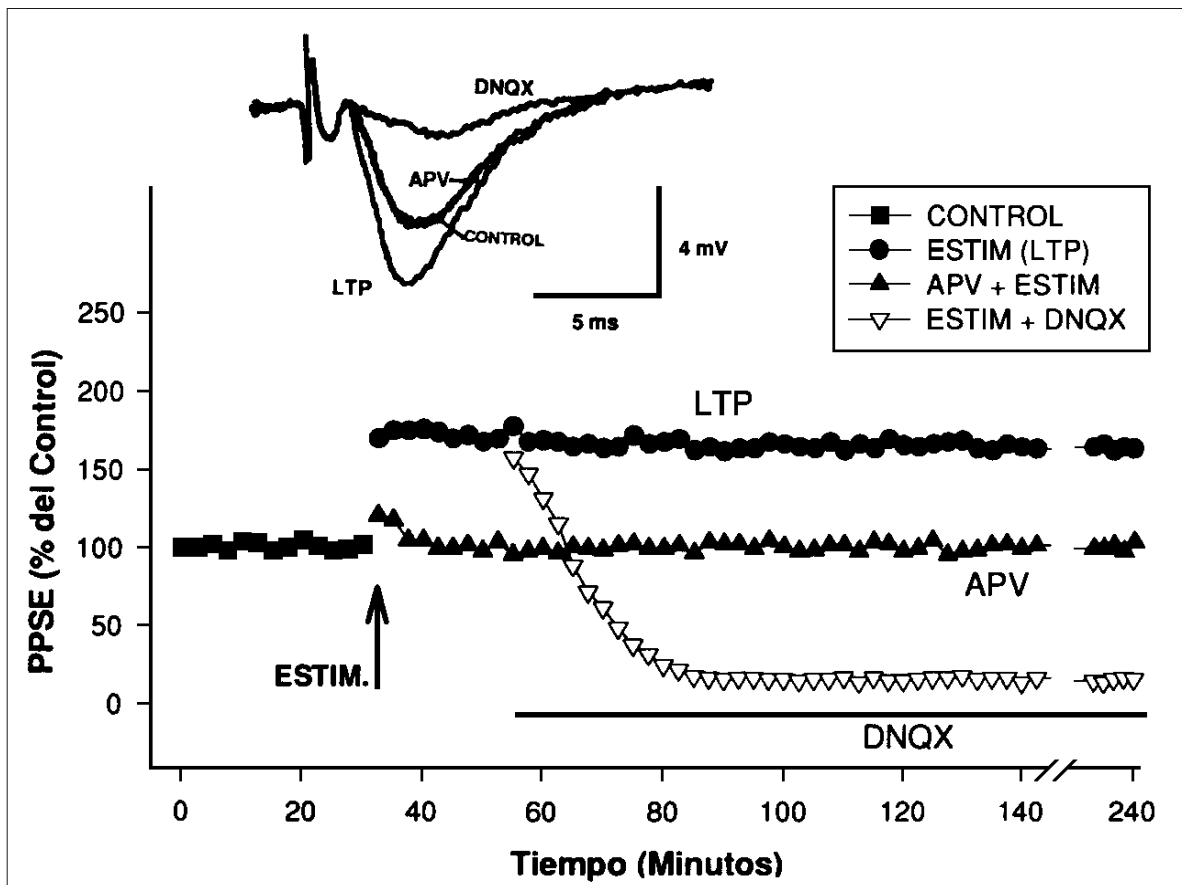


Figura 2. Efecto de fármacos glutamatergicos sobre la inducción de una LTP. La figura presenta el porcentaje de amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios (PPSE) a través del tiempo. Los cuadros cerrados representan los PPSE bajo condiciones control (100 %). La flecha indica la estimulación (ESTIM) de alta frecuencia. Los círculos cerrados corresponden al incremento de larga duración en los PPSE después de ESTIM, propio de una LTP. El bloqueo en la inducción de una LTP por antagonistas de los receptores NMDA, como el APV (D-aminofosfonovalérico), se ilustra en los triángulos cerrados. Los triángulos abiertos muestran que la LTP no se expresa cuando los receptores AMPA son bloqueados con DNQX (6,7-Dinitroquinoxalina-2,3-diona). En la parte superior izquierda se muestran respuestas individuales durante cada una de las condiciones antes señaladas. *Basada en Wigstrom y Gustafsson, 1986 y Lynch y cols., 1990.*

Inducción

Apartir del descubrimiento de la LTP, el esfuerzo experimental para comprender los mecanismos celulares que la subyacen, así como su posible relación con procesos de aprendizaje y memoria, ha sido intenso. En general existe el acuerdo de que la potenciación a largo plazo presenta dos fases: una fase de inducción y otra de mantenimiento.

En la fase de inducción se ha propuesto que el mecanismo que interviene, por lo menos en el giro dentado y en la región CA1 del hipocampo (19, 21), comprende al sistema de neurotransmisión glutamatergico y a la entrada de calcio a la célula (fig. 1).

El glutamato puede activar por lo menos a cuatro tipos de receptores, tres de los cuales están asociados a canales iónicos transmembranales, y el cuarto a un receptor de tipo metabotrópico (50). Los receptores asociados a un canal se distinguen, farmacológicamente, por sus agonistas específicos: N-metil-D-aspartato (NMDA), quisqualato (Q) y kainato (K). Sin embargo, la dificultad para distinguir entre los receptores al ácido quisqualico y kainico condujo, inicialmente, a refe-

rirse colectivamente a ellos como receptores no-NMDA (37), o "K/Q" (62). Actualmente, al receptor quisqualato se le llama receptor AMPA (i. e.: alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) dada su mayor afinidad por este análogo del ácido quisqualico (23). El cuarto tipo de receptor glutamatergico es un receptor metabotrópico o receptor asociado a proteínas G. El descubrimiento del bloqueo de la inducción de la LTP por la aplicación de antagonistas del receptor NMDA reveló, inicialmente, la participación del glutamato y de este receptor en el fenómeno (11, 20, 64) (fig 2).

Una vez que el glutamato ha sido liberado de la membrana presináptica, puede unirse tanto a los receptores NMDA como a los receptores ionotrópicos no-NMDA (AMPA/kainato). Ambos receptores coexisten en las espinas dendríticas de la célula postsináptica (20, 21). El potencial postsináptico excitatorio (PPSE), durante estimulación a baja frecuencia, es primeramente sostenido por el flujo de corriente (principalmente Na^+) a través del canal de los receptores AMPA/kainato, al cual se le considera como de transmisión sináptica rápida (37, 47). Inicialmente, a pesar de la

unión del glutamato con el receptor NMDA, no se lleva a cabo la activación del canal iónico asociado a este receptor, debido a que los receptores NMDA presentan una sensibilidad al voltaje (37), es decir, en condiciones normales de reposo (p.e. cuando el potencial de membrana es de alrededor de -65 mV) el canal iónico del receptor NMDA presenta un bloqueo dado por la presencia de iones de magnesio (Mg^{2+}). No obstante, si la depolarización de la membrana postsináptica se eleva en alrededor de -30 mV, durante un periodo sostenido (p.e. durante estimulación a alta frecuencia), el Mg^{2+} es liberado del canal iónico y la unión del glutamato con el sitio de reconocimiento del receptor resulta en la apertura del canal y en la entrada de iones de Ca^{2+} y de Na^{+} (47) (fig. 1). De esta forma, la sensibilidad de voltaje del receptor NMDA, a través del bloqueo por el magnesio (37), asegura que la activación del receptor y la consecuente entrada de calcio, depende de una depolarización postsináptica suficiente (64). En la inducción de la LTP, la activación de un número crítico de fibras presinápticas (cooperatividad), logra este efecto (40). Estas propiedades explican la naturaleza Hebbiana y la asociatividad de la LTP (40, 49).

La participación de la actividad postsináptica en la LTP, se indicó primeramente por el descubrimiento de que la inducción del fenómeno es facilitada cuando se bloquea la inhibición postsináptica. Wigström y Gustafsson (63) reportaron que la aplicación de antagonistas del receptor al GABA (bicuculina, penicilina y picrotoxina) en la preparación de rebanadas hipocámpales, produce un efecto de facilitación sobre la inducción de la LTP: después de la aplicación de la droga se necesitó una activación aferente de menor magnitud para generar una LTP; trenes constituidos por tan solo 2-5 impulsos, que normalmente producen sólo efectos de corta duración, fueron capaces de inducir una LTP. Wigström y Gustafsson sugieren que la inducción facilitada de la LTP en la presencia del antagonista GABAérgico está relacionada con la activación facilitada de los receptores NMDA, la cual es secundaria a los niveles altos de depolarización dendrítica alcanzados durante una tetanización en condiciones de inhibición postsináptica reducida. Los estudios posteriores en la región hipocámpal CA1 han demostrado esta participación de manera más directa: se ha reportado que los potenciales postsinápticos excitatorios evocados por descargas únicas a bajas frecuencias pueden desarrollar LTP cuando se emparejan con pulsos despolarizantes (19). El registro intracelular con control de la polarización membranar durante la estimulación tetánica, por medio de la inyección intracelular de corrientes despolarizantes o hiperpolarizantes, corroboró la facilitación e inhibición, respectivamente, de la LTP (20). Así, la modificación de la actividad postsináptica por medios eléctricos o farmacológicos, permite modular la inducción de la LTP, tal como se ha señalado, con los antagonistas glutamatérgicos (fig. 2), con el bloqueo de la inhibición postsináptica o con la inyección de corrientes despolarizantes o hiperpolarizantes.

El suceso real que dispara la LTP es la entrada de iones de calcio a través de los canales del receptor NMDA, receptor que presenta una alta permeabilidad

al calcio (36). Se ha demostrado (33, 34) que la inyección postsináptica de EGTA (un quelante del calcio) previene la inducción de la LTP. La reducción de las concentraciones extracelulares de iones de calcio, combinado con un incremento en la concentración extracelular de iones de magnesio, disminuye fuertemente la capacidad de un estímulo tetanizante para evocar la LTP, mientras que el incremento extracelular en los niveles de iones de calcio fortalecen la LTP (20). Por otra parte, Malenka y cols. (38) reportaron que la liberación de calcio dentro de las neuronas postsinápticas por el compuesto Nitr-5 produce una potenciación de la transmisión sináptica.

Las espinas dendríticas tienen un papel importante en la especificidad sináptica de la LTP. Estas estructuras son pequeñas protuberancias conectadas con el árbol dendrítico principal por medio de un "cuello" delgado. Este "cuello" puede servir como una barrera, la cual previene la entrada o difusión de calcio desde el árbol dendrítico principal. Así, el canal asociado al receptor NMDA, localizado en la espina dendrítica, puede proporcionar una fuente local de calcio para la espina (dada la no dispersión del ión), la cual estaría relacionada con la actividad sináptica, especialmente con la inducida tetánicamente. De esta forma, sólo las sinapsis activas pueden proveerse de su propio calcio, siempre y cuando se activen suficientes receptores NMDA (37).

Mantenimiento

En relación con la fase de mantenimiento, existe controversia con respecto a cuáles son los componentes sinápticos responsables de la persistencia del fenómeno. Así, el debate se centra en tres posibilidades principales: el mantenimiento de la LTP es exclusivamente presináptico, exclusivamente postsináptico, o comprende ambos sitios de la sinapsis (12). La evidencia experimental existente apoya tanto la participación del componente presináptico como la del postsináptico; no obstante, ambas posibilidades no aparecen como mutuamente excluyentes.

Una de las posibles explicaciones del mantenimiento de la LTP radica en el incremento sostenido de la liberación del neurotransmisor por parte de la terminal presináptica. Inicialmente Bliss y cols. (4) reportaron un incremento significativo en la liberación de glutamato durante, por lo menos, dos horas después de la inducción de la LTP en el giro dentado; una hora, por lo menos, en el CA1 y más de tres días en experimentos *ex vivo* en el giro dentado. Los estudios posteriores del hipocampo han reafirmado la observación de un incremento en la liberación del neurotransmisor que pudiera estar contribuyendo al mantenimiento de la LTP (16, 42).

Mensajeros retrógrados

Se ha indicado que la activación del componente presináptico en el mantenimiento de la LTP, por medio del incremento en la liberación del neurotransmisor, seguramente incluye la participación de un mensajero

retrógrado liberado por la célula postsináptica, el cual actuaría sobre la terminal presináptica. La investigación sobre la participación de tal mensajero retrógrado se ha centrado principalmente en dos moléculas; el ácido araquidónico y el óxido nítrico (fig. 3), debido a que ambas moléculas se difunden libremente, se generan y se liberan bajo aplicaciones de N-metil-D-aspartato a las neuronas hipocámpales, estimulan la liberación del neurotransmisor, producen una potenciación sináptica similar a la LTP y los inhibidores de ambas moléculas bloquean la LTP (32).

Dado que el calcio se incrementa en la célula postsináptica durante la inducción de la LTP (33, 34), es probable que la activación de la fosfolipasa A2 por este catión aumente la generación de uno de sus productos, el ácido araquidónico (fig. 3), el cual puede ser considerado como un buen candidato a ser un mensajero retrógrado. Se ha reportado que la activación del receptor glutamatérgico asociado con proteínas G puede estimular la liberación de ácido araquidónico (6). Lynch y cols. (35) presentan evidencia de un incremento pequeño pero significativo en la liberación de ácido araquidónico en el giro dentado después de la inducción de la LTP, y de que sustancias tales como el ácido nordihidroguaiarático (NDGA), el cual bloquea el metabolismo del ácido araquidónico, interfieren con la potenciación a largo plazo de los potenciales postsinápticos excitatorios en el hipocampo. Por su parte, Luo y Vallano (32) analizaron la activación de la proteína-kinasa C y la fosforilación de su sustrato presináptico, la proteína 43-kDa crecimiento-asociada (GAP-43), en la preparación de rebanadas de hipocampo y en sinaptosomas. La estimulación de alta frecuencia en las colaterales de Schaffer incrementa significativamente la fosforilación de la GAP-43 dependiente de la proteína-kinasa C en CA1. Tal fosforilación no se observa bajo la aplicación de antagonistas del receptor NMDA, por lo que esta fosforilación puede contribuir al mantenimiento de la LTP, incrementando la probabilidad de liberación del neurotransmisor. Luo y Vallano reportaron que la aplicación de ácido araquidónico produjo un incremento en la fosforilación de la GAP-43 dependiente de la proteína-kinasa C, entre los 10 y los 30 min después de la inducción de la LTP.

Por otra parte, hay evidencia de la participación del óxido nítrico en el mantenimiento de la LTP. Lin y Bennett (29) reportaron que el bloqueo de la síntesis del óxido nítrico decrementa la potenciación en un 70% en los ganglios ciliares de las aves, y que la aplicación exógena de óxido nítrico incrementa la amplitud de los PPSE en más de un 30%, debido a un aumento en el contenido cuantal de los PPSE.

Musleh y cols. (48) también probaron el efecto de los inhibidores de la enzima de la síntesis del óxido nítrico (NO sintasa) sobre la LTP en la preparación de rebanadas de hipocampo. Ellos observaron una caída lenta de la potenciación en las rebanadas incubadas en la presencia de estos compuestos. Los autores discuten la posibilidad de que la farmacología o dosis utilizadas pudo haber interferido sobre la depolarización que ocurre durante la estimulación con alta frecuencia, quizá actuando a nivel del control de las propiedades del receptor NMDA. Musleh y cols. señalan que

sus resultados no excluyen necesariamente la posibilidad de que el ácido araquidónico participe como un mensajero retrógrado.

Proteín-kinasas

La activación de proteína-kinasas tiene un papel importante en la modulación de la transducción de señales en varias células. La activación de estas enzimas conduce a la fosforilación de proteínas. La adición o sustracción de un grupo fosfato puede alterar la conformación de una enzima modificando su función, o la de una proteína del citoesqueleto, o la de una subunidad de un canal iónico, todo lo cual puede conducir a la apertura o cierre del canal modulando así las propiedades de señalización de la neurona, o también puede incidir sobre un activador de la transcripción genética. El equilibrio entre la fosforilación y la desfosforilación de ciertas proteínas por medio de proteína-kinasas es también importante en la generación de potenciación o en la atenuación de la transmisión sináptica, lo cual es uno de los mecanismos básicos propuestos para el aprendizaje y la memoria (59).

En un gran número de estudios se ha señalado la participación, tanto presináptica como postsináptica, de la proteína-kinasa II Ca^{2+} /calmodulindependiente (CaMKII) y de la proteína-kinasa C (PKC) en la generación y el mantenimiento de la LTP (59) (fig. 3). En general estos reportes se basan, en su mayor parte, en el uso de inhibidores inespecíficos y específicos de las proteína-kinasas o en la medición de su activación. Entre estos se ha referido que la inyección intracelular en la postsinapsis, de antagonistas de la calmodulina (calmidazolium) o de péptidos sintéticos, bloquea la inducción de la LTP y la auto- y sustrato-fosforilación de la CaMKII, respectivamente (39). A finales de los años 80 se sugirió que la participación de la CaMKII y de la PKC estaba relacionada con fases diferentes en el desarrollo de la LTP. La CaMKII parece ser esencial en el proceso de inducción de la LTP, mientras que la PKC participaría en el mantenimiento de la LTP una vez generada (53). Recientemente, Lledo y cols. (30) inyectaron directamente al interior de células piramidales de la región CA1 del hipocampo, la forma constitutivamente activa de la CaMKII, lo cual tuvo como resultado un incremento gradual en la amplitud de las corrientes excitatorias postsinápticas. El efecto de la CaMKII fue muy similar a varias de las características de la LTP, y los resultados del análisis realizado al fenómeno por estos investigadores, indicaron que la CaMKII por sí sola es suficiente para aumentar la fortaleza sináptica, y que esta potenciación comparte los mismos mecanismos que subyacen a la potenciación observada en la LTP.

En 1992 se reportó un estudio en ratones mutantes ("Knock-out": remoción de un gen), en los cuales se indujo la carencia específica de la subunidad-alfa de la CaMKII. Esta mutación previno la LTP en las sinapsis Schaffer-CA1 y produjo una deficiencia en el aprendizaje espacial de los ratones, lo cual confirmó la participación de la CaMKII, o al menos su subunidad-alfa, en la LTP y en procesos de aprendizaje espacial (54, 55).

Por otra parte, Terrian y cols. (60) analizaron las propiedades metabólicas, en sinaptosomas, de las fibras musgosas del hipocampo; los resultados demostraron la presencia de las isoformas alfa, beta, gama y épsilon de la PKC, y un papel funcional de la enzima en las terminales nerviosas, ya que el 4beta-forbol 12,13-dibutirato (PDB μ) y el 4beta-forbol 12,13-diacetato (activadores de la PKC) producen una potenciación dosis-dependiente de la liberación endógena de glutamato. El incremento del neurotransmisor por la exposición al PDBu fue bloqueado por un inhibidor de la PKC. Sin embargo, los estudios posteriores no han alcanzado un consenso acerca de la forma en que la PKC participa en el mantenimiento de la LTP (59).

La proteína-quinasa A (PKA) también ha sido señalada como un componente importante de la LTP. Matthies y Reymann (45) reportaron la posible activación de la PKA dependiente de AMPc en los mecanismos de potenciación a largo plazo en las sinapsis de la región CA1 del hipocampo, por medio del uso, *in vitro*, de varios inhibidores de esta cinasa. Sus resultados señalan que la aplicación previa de los inhibidores (H-8, KT5720 y Rp-cAMPS) no obstruye el desarrollo normal de la potenciación a corto plazo; no obstante, 3hrs después de la tetanización, la LTP declinó con respecto a los controles de manera irreversible. Los datos sugieren que la activación de la PKA es necesaria para el mantenimiento de la LTP. Durante la LTP, tanto la liberación presináptica del neurotransmisor como la efec-

tividad postsináptica del receptor glutamatérgico podrían depender de la activación de la PKA.

A pesar de que los estudios anteriores revelan la importancia de las proteína-quinasas en la LTP, su participación diferencial en la inducción o mantenimiento del fenómeno no está aún bien establecida. No obstante, las evidencias sugieren que su participación puede involucrar tanto a la presinapsis como a la postsinapsis (fig. 3).

Modificación en los receptores postsinápticos

Otro de los mecanismos propuestos en cuanto al mantenimiento de la LTP es la modificación de la sensibilidad de los receptores en la membrana postsináptica ante el neurotransmisor. Tomas y cols. (61) utilizaron análisis por hibridación *in situ* para evaluar la expresión postsináptica de la isoforma de la subunidad 1 del receptor NMDA (NR1), sensible o insensible a la activación de la PKC, en las células granulares del giro dentado del hipocampo, después de la inducción de la LTP. Estos autores refieren que hay una elevación selectiva en los niveles de ARNm (50%) que codifican para la NR1, la cual contiene la secuencia para la fosforilación de la PKC, 48 hrs después de haber inducido la LTP, y señalan que el cambio en la expresión de esta subunidad NR1, sensible a la PKC, puede ser la base molecular del incremento de la respuesta de la

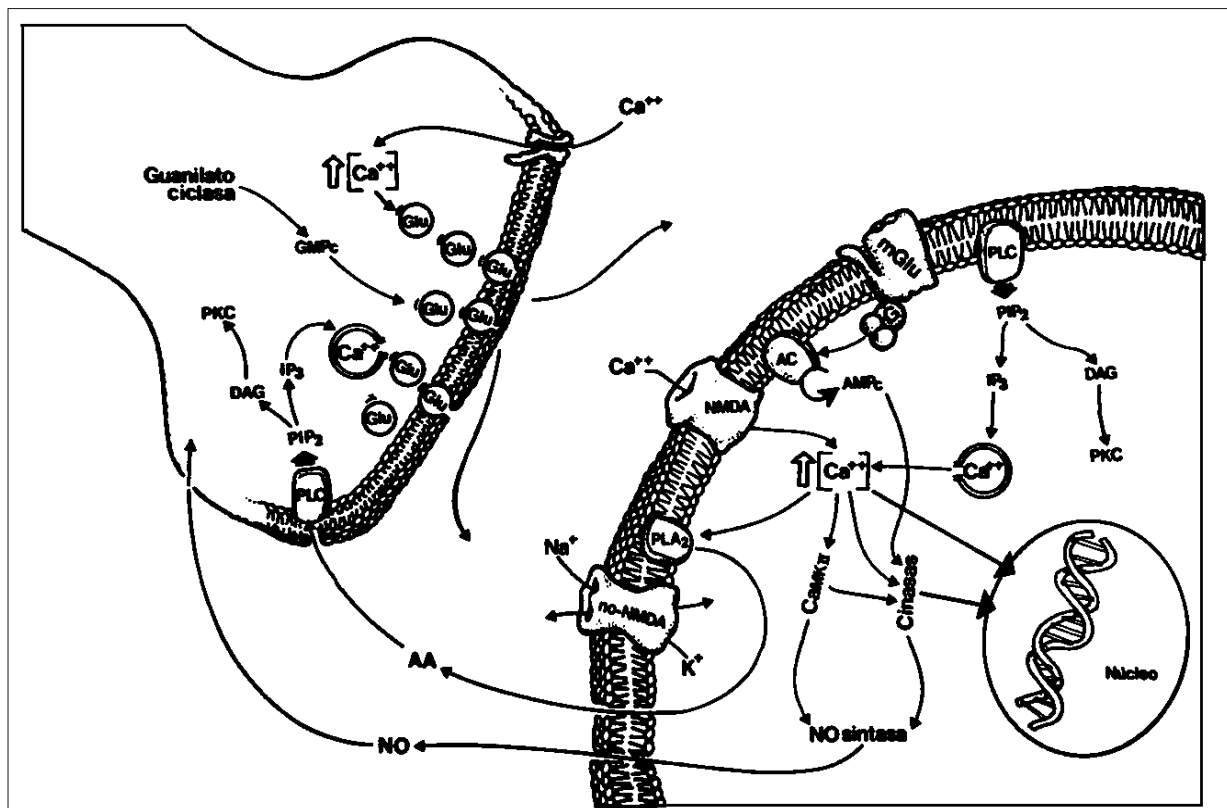


Figura 3. Resumen de la cascada metabólica que se produce durante una LTP. AA: Ácido Araquidónico, AC: Adenilato Ciclasa, AMPc: Adenosin-Mono-Fosfato cíclico, CAMKII-. Proteína-Cinasa II Ca^{2+} /calmodulin-dependiente, DAG: Diacil Glicerol, G: Proteína G, Glu: Glutamato, GMPC: Guanosin-Mono-Fosfato cíclico, IP₃: Inositol trifosfato, NMDA: Receptor N-Metil-D-Aspartato, mGlu: Receptor Glutamatérgico metabotrópico, no-NMDA: Receptores ionotrópicos no NMDA (AMPA/kainato), NO: Óxido Nítrico, PIP₂: Fosfatidil inositol Difosfato, PKC: Proteína-Cinasa C, PLA₂: Fosfolipasa A₂, PLC: Fosfolipasa C. Ver texto.

célula postsináptica a la liberación del glutamato durante la fase de mantenimiento de la LTP.

Una prueba adicional de que hay un cambio postsináptico asociado con la LTP es que la respuesta postsináptica a la aplicación exógena de AMPA se incrementa durante la LTP. Este aumento en la respuesta aparece en el transcurso de los 30 seg a las 2 hrs posteriores a la estimulación tetanizante (14). La aplicación de aniracetam, una droga nootrópica que incrementa selectivamente las corrientes mediadas por el receptor glutamatérgico AMPA, produce un aumento en la amplitud de los potenciales excitatorios postsinápticos de campo; no obstante, este efecto es proporcionalmente menor después de la inducción de una LTP en CA1 (58). El aniracetam produce la facilitación de la inducción de la LTP (1). Esta interacción entre el aniracetam y la LTP no logró reproducirse con el incremento de la liberación del neurotransmisor o del número de sinapsis estimuladas (57). Estos descubrimientos apoyan la hipótesis de que la LTP refleja un cambio en las propiedades de los receptores AMPA en la postsinapsis.

La participación de los receptores metabotrópicos glutamatérgicos (MGLuRs) también ha sido un punto de interés en el estudio de los mecanismos que subyacen a la LTP. Bortolotto y cols. (7) señalan que el agonista específico del MGLuR, el ACPD, puede aumentar la LTP inducida por estimulación tetanizante, y bajo ciertas circunstancias puede inducir la LTP en ausencia de tal estimulación, mientras que el antagonista competitivo de los MGLuRs, el MCPG, bloquea, de manera dosis-dependiente, la inducción de la LTP, pero no de la potenciación a corto plazo. No obstante, los autores no refieren si la participación de los MGLuRs ocurre a nivel de la terminal presináptica o de la célula postsináptica.

Síntesis de proteínas

Por otra parte, la actividad neuronal puede inducir la expresión de cierto número de genes (fig. 3), particularmente la de las familias de los genes tempranos *c-fos* y *c-jun*. Cole y cols. (10) reportaron un incremento rápido del ARNm que codifica los factores de transcripción para el *zif/268*, *jun-B* y posiblemente el *c-fos*, en el giro dentado después de la estimulación a alta frecuencia de la vía perforante. Se ha sugerido que la producción de nuevas proteínas puede tener un papel importante en el desarrollo de la LTP. La aplicación *in vitro* de un inhibidor de la síntesis de proteínas, la anisomicina, bloquea la LTP en las sinapsis de las colaterales de Schaffer en CA1 (17).

La LTP y neuropatología

Considerando la relevancia de la plasticidad neuronal como una respuesta del sistema nervioso ante las contingencias del medio y, en particular, ante los cambios drásticos o súbitos a los que está expuesto, resulta lógica la interrogante sobre la expresión de la LTP bajo estados particulares, como pueden ser las enfermeda-

des neurodegenerativas o las neuropatologías en general. Sin embargo, la investigación en este aspecto no es amplia y generalmente sólo se limita a la evaluación de algunos componentes celulares, importantes en la LTP, en pacientes con alteraciones neurológicas.

A este respecto, Rebeck y cols. (52) analizaron la actividad de la NO-sintasa por medio del marcaje de la diáforasa-NADPH, en el hipocampo de los pacientes con enfermedad de Alzheimer, revelando que estos pacientes, en comparación con los individuos control, presentan una marcada disminución de esta enzima en el neurópilo, particularmente en el tercio medio de la capa molecular del hipocampo (18-31%), con mayor pérdida en los casos más severamente afectados. Kuiper y cols. (27) también refieren que hay una disminución en la producción de óxido nítrico por el sistema nervioso central, debido a la medición de concentraciones bajas de los productos de degradación del óxido nítrico (nitrato y nitrito), en el fluido cerebro-espinal de los pacientes con Alzheimer y Parkinson.

Algunos grupos se han interesado en probar el efecto de las drogas que potencian la transmisión glutamatérgica y a la LTP sobre la sintomatología cognoscitiva de la enfermedad de Alzheimer. Entre éstas, se ha señalado a un grupo de sustancias llamadas Ampakinas (por su acción sobre el receptor AMPA) las cuales mejoran la adquisición y la retención de la información en las ratas viejas a niveles equivalentes a los observados en las ratas jóvenes (18) y cuya viabilidad en la farmacoterapia de los seres humanos con demencias se ha comenzado a evaluar (44). La aplicación de aniracetam (1500 mg/día) que, como se mencionó anteriormente, potencia las corrientes mediadas por el receptor AMPA y tiene efectos facilitadores en la inducción de la LTP, resultó significativamente más efectiva que la administración de placebo sobre la ejecución de todas las pruebas realizadas (a 4 y 6 meses) por pacientes con demencia senil de tipo Alzheimer (28). No obstante, Cutler y cols. (13) indicaron que la aplicación del compuesto nootrópico BMY 21,502, a pesar de que se ha referido que fortalece a la LTP, no produjo diferencias estadísticamente significativas en la ejecución en una batería de pruebas neuropsicológicas computarizadas (CNTB), ni en el puntaje obtenido en la escala de evaluación para la enfermedad de Alzheimer (ADAS), en un grupo de pacientes con Alzheimer *versus* un grupo control al que se le administró placebo. Asimismo, Randolph y cols. (51) señalan que en 12 pacientes con diagnóstico probable de enfermedad de Alzheimer, a los cuales se les administró D-cicloserina (un agonista parcial e indirecto para receptores NMDA), no se observaron efectos significativos o constantes en los resultados de evaluaciones neuropsicológicas.

Con respecto a las protein-quinasas, Simonian y cols. (56), hicieron un análisis inmunoreactivo de la subunidad alfa de la CaMKII en los cerebros de individuos con Alzheimer. Estos investigadores encontraron inmunoreactividad a la CaMKII en las áreas citoarquitectónicas, y neuronas vulnerables a la formación de ovillos neurofibrilares y placas seniles. También señalan que más del 80% de las neuronas que muestran ovillos neurofibrilares expresaron CaMKII y que, en general,

las áreas de análisis (hipocampo y área 20 de Brodman) preservan la distribución y densidad de esta proteína-kinasa. Estos resultados sugieren que la expresión de la CaMKII está inalterada en el cerebro de las personas con enfermedad de Alzheimer, a pesar de los marcados cambios neuropatológicos demostrables con otros marcadores.

Por otra parte, también se ha referido que la LTP puede modificarse con la aplicación de sustancias empleadas en la farmacoterapia psiquiátrica. Tal es el caso de benzodiazepinas, como el diazepam, el CDP (8, 15) o el CL 218,872 (46) o por la aplicación de agentes antidepresivos como la trimipramina (43). Aunado a lo anterior, también se ha indicado que en un modelo experimental de epilepsia, la lesión del hipocampo de la rata por ácido kaínico, la LTP presenta una disminución significativa en la amplitud de la respuesta y el efecto opuesto (depresión a largo plazo) en el componente sináptico dependiente del receptor NMDA (2). Como se puede apreciar, algunas condiciones clínicas pueden interferir con las propiedades de la naturaleza de la LTP, lo cual ubica a este fenómeno como una instancia de interés fisiológico y patológico

Perspectivas

La evidencia actual no permite concluir de manera completa cuál es el mecanismo que sostiene el mantenimiento de la LTP, y tampoco señala a la terminal

presináptica o a la célula postsináptica como responsables exclusivos. Al parecer, los estudios tienden a sugerir la coparticipación de ambos componentes sinápticos en el mantenimiento de la LTP. No obstante, es importante hacer notar que aún se requiere una mayor labor experimental. Esta revisión refiere brevemente algunos de los puntos más importantes que resultan del análisis de los mecanismos que intervienen en la LTP, señalando que ésta depende de la estructura estudiada, de las condiciones experimentales (i.e. presencia de agonistas o antagonistas del glutamato, del GABA, etc.) y de los parámetros de estimulación empleados en su inducción, y ubica a la LTP como un modelo de plasticidad en la que interviene la participación de diversos componentes celulares. Asimismo, subraya la importancia que tiene este modelo de plasticidad neuronal en el análisis de los mecanismos plásticos y adaptativos del SNC, ya sea en sí mismos, durante la influencia de ciertos fármacos de uso clínico o bajo estados neuropatológicos. Finalmente, el esfuerzo experimental empleado en su estudio continúa en aumento, y es indudable que en un futuro relativamente cercano, podamos definir con mayor precisión los cambios sinápticos y extrasinápticos que acompañan a este fascinante fenómeno y su posible relación con los procesos cognoscitivos.

Agradecimientos

Ayogado parcialmente por CONACYT.

REFERENCIAS

1. ARAI A, LYNCH G: Factors regulating the magnitude of long-term potentiation induced by theta pattern stimulation. *Brain Res*, 598(1-2):173184, 1992.
2. BERNARD C, WHEAL H: Simultaneous expression of long-term depression of NMDA and long-term potentiation of AMPA receptor-mediated synaptic responses in the CA1 area of the kainic acid-lesioned hippocampus. *Eur J Neurosci*, 7(7):1651-1655, 1995.
3. BLISS T V P, LØMO T: 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, 1973.
4. BLISS T V P, ERRINGTON M, LAROCHE S, LYNCH M: Increase in K⁺-stimulated, Ca²⁺-dependent release of ³H-glutamate from rat dentate gyrus three days after induction of long-term potentiation. *Neuroscience Letters*, 83:107-112, 1987.
5. BLISS T V P, COLLINGRIDGE G L: A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(7):31-39, 1993.
6. BOCKAERT J, DUMUIS A, MANZONI O, NARGEOT J, OOMAGARI K, PIN JP, RASSENDREN F, SEBBEN M, SLADCEK F: Intracellular messengers associated with excitatory amino acid (EAA) receptors. En: Ben-Ari Y (ed). *Excitatory Amino Acids and Neural Plasticity*. Plenum Press, Nueva York, 1990.
7. BORTOLOTO Z, BASHIR Z, DAVIS C, TAIRA T, KAILA K, COLLINGRIDGE G: Studies on the role of metabotropic glutamate receptors in long-term potentiation: some methodological considerations. *Journal of Neuroscience Methods*, 59:19-24, 1995.
8. BROWN M W, RICHES I P, CAIRNS N J, SMITHSON J E: Memory-affecting drugs and hippocampal synaptic plasticity. En: H L Hass, G Buzsaki (eds). *Synaptic Plasticity in the Hippocampus*. Springer, Berlin, 1988.
9. CASTRO-ALAMANCOS M, DONOGHUE J, CONNORS B: Different forms of synaptic plasticity in somatosensory and motor areas of the neocortex. *The Journal of Neuroscience*, 15(7):5324-5333, 1995.
10. COLE A, SAFFEN D, BARABAN J, WORLEY P: Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature*, 340:474-476, 1989.
11. COLLINGRIDGE G, KEHL S, MCLENNAN H: The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurones in vitro. *Journal of Physiology*, 334:33-46, 1983.
12. CREPEL F: Presynaptic versus postsynaptic changes in long-term potentiation. En: Baundry M, Davis J (eds). *Long-Term Potentiation: a Debate of Current Issues*. A Bradford Book, The MIT Press, 1991.
13. CUTLER N R, SHROTRIYA R C, SRAMEK J J, VEROFF A E, SEIFERT R D: The use of the computerized Neuropsychological Test Battery (CNTB) in and efficacy and safety trial of BMY 21,502 in *Alzheimer's disease*. *Ann N Y Acad Sci*, 695:332-336, 1993.
14. DAVIES S, LESTER R, REYMANN K, COLLINGRIDGE G: Temporally distinct pre- and postsynaptic mechanisms maintain long-term potentiation. *Nature*, 338:500-503, 1989.
15. DEL CERRO S, JUNG M, LYNCH G: Benzodiazepines blocks long-term potentiation in slices of hippocampus and piriform cortex. *Neuroscience*, 49:1-6, 1991.
16. FOSTER C, MCNAUGHTON L: Long-term enhancement of CA1 synaptic transmission is due to increased quantal size, not quantal content. *Hippocampus*, 1:79-91, 1991.
17. FREY U, KRUG M, REYMANN K, MATTHIES H: Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, block late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res*, 452:57-65, 1987.
18. GRANGER R, DEADWYLER S, DAVIS M, MOSKOVITZ B, KESSLER M, ROGERS G, LYNCH G: Facilitation of glutamate receptors reverses an age-associated memory

- impairment in rats. *Synapse*, 22:332-337, 1996.
19. GUSTAFSSON B, WIGSTRÖM H: Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. *Trends in Neurosciences*, 11 (4):156-162, 1988.
20. GUSTAFSSON B, WIGSTRÖM H: Long-term potentiation in the hippocampal CA1 region: its induction and early temporal development. *Progress in Brain Research*, 83:223-232, 1990.
21. HANSE E, GUSTAFSSON B: Long-term potentiation in the hippocampal CA1 region in the presence of N-Methyl-D-Aspartate receptor antagonist. *Neuroscience*, 67(3):531-539, 1995.
22. HEBB DO: *The Organization of Behavior*. John Wiley and Sons, Nueva York, 1949
23. HONORE T, SHEARDOWN M, NIELSEN E, DREJER J, HANSEN A: Specific quisqualate receptor ligand blocks both kainate and quisqualate responses. En: Ben-Ari Y (ed). *Excitatory Amino Acids and Neural Plasticity*. Plenum Press, Nueva York, 1990.
24. KANDEL E, SCHWARTZ J: Molecular biology of learning: Modulation of transmitter release. *Science*, 218(4571):433-443, 1982.
25. KANDEL E: Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. En: Kandel E, Schwartz J, Jessell T (eds). *Principles of Neural Science*. (3a. Edición). Appleton & Lange, USA 1991.
26. KANTER E, HABERLY L: Associative long-term potentiation in pyriform cortex slices requires GABAA blockade. *The Journal of Neuroscience*, 13(6):2477-2482, 1993.
27. KUIPER M A, VISSER J J, BERGMANS P L, SCHELTENS P, WOLTERS E C: Decreased cerebrospinal fluid nitrate levels in Parkinson's disease, Alzheimer's disease and multiple system atrophy patients. *J Neurol Sci*, 121(1):46-49, 1994.
28. LEE C R, BENFIELD P: Aniracetam. An overview of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and a review of its therapeutic potential in senile cognitive disorders. *Drugs Aging*, 4(3):257-273, 1994.
29. LIN Y, BENNETT M: Nitric oxide modulation of quantal secretion in chick ciliary ganglia. *Journal of Physiology*, 481:385-394, 1994.
30. LLEDO P M, HJELMSTAD GO, MUKHERJI S, SODERLING T R, MALENKA R C, NICOLL R A: Calcium/calmodulin-dependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92(24):11175-11179, 1995.
31. LÖMOT T: Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. *Acta Physiol Scand*, 68(Sup. 277):128, 1966.
32. LOU Y, VALLANO M: Arachidonic acid, but not sodium nitroprusside, stimulates presynaptic protein kinase C and phosphorylation of GAP-43 in rat hippocampal slices and synaptosomes. *Journal of Neurochemistry*, 64(4):1808-1818, 1995.
33. LYNCH G, LARSON J, KELSO S, BARRIONUEVO G: Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, 305:719-721, 1983.
34. LYNCH G, KESSLER M, ARAI A, LARSON J: The nature and causes of hippocampal long-term potentiation. *Progress in Brain Research*, 83:233-250, 1990.
35. LYNCH M, ERRINGTON M, BLISS T: Nordihydroguaiaretic acid blocks the synaptic component of long-term potentiation and the associated increases in release of glutamate and arachidonate: an in vivo study in the dentate gyrus of the rat. *Neuroscience*, 30:693-705, 1989.
36. MACDERMOTT A, MAYER M, WESTBROOK G, SMITH S, BARKER J: NMDA receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*. 321:519-522, 1986.
37. MADISON D, MALENKA R, NICOLL R: Mechanisms underlying long-term potentiation of synaptic transmission. *Annual Review of Neuroscience*, 14:379-397, 1991.
38. MALENKA R, KAUER J, ZUCKER R, NICOLL R: Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science*, 242:81-84, 1988.
39. MALENKA R, KAUER J, PERKEL D, MAUK M, KELLY P, NICOLL R, WAXHAM M: An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature*, 340:554-557, 1989.
40. MALENKA R: Postsynaptic factors control the duration of synaptic enhancement in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 6:53-60, 1991.
41. MALENKA R: LTP and LTD: Dynamic and interactive processes of synaptic plasticity. *The Neuroscientist*, 1(1):35-42, 1995.
42. MALGAROLI A, TSIEN W: Glutamate-induced long-term potentiation of the frequency of miniature synaptic currents in cultured hippocampal neurons. *Nature*, 357:134-139, 1992.
43. MASSICOTTE G, BERNARD J, OHAYON M: Chronic effects of trimipramine, and antidepressant, on hippocampal synaptic plasticity. *Behav-Neural-Biol*, 59(2):100-106, 1993.
44. MARX J: Searching for drugs that combat Alzheimer. *Science*, 273(5271):50-53.
45. MATTHIES H, REYMANN K: Protein kinase A inhibitors prevent the maintenance of hippocampal long-term potentiation. *Neuroreport*, 4(6):712714, 1993.
46. McNAMARA R, DePAPE G, SKELTON R: Differential effects of benzodiazepine receptor agonists on hippocampal long-term potentiation and spatial learning in the Morris water maze. *Brain Research*, 629(1-2):63-70, 1993.
47. MORRIS R: The neural basis of learning with particular reference to the role of synaptic plasticity: Where are we a century after Cajal's speculations. En: Mackintosh N. (ed). *Animal Learning and Cognition*, Academic Press, Inc. Nueva York, 1994.
48. MUSLEH W, SHAHI K, BAUDRY M: Further studies concerning the role of nitric oxide in LTP induction and maintenance. *Synapse*, 13(4):370-375, 1993.
49. NICOLL R, KAUER J, MALENKA R: The current excitement in long-term potentiation. *Neuron*, 1:97-103, 1988.
50. PETRALIA R S, WANG Y X, NIEDZIELSKI A S, WENTHOLD R J: The metabotropic glutamate receptors, mGluR2 and mGluR3, show unique postsynaptic, presynaptic and glial localizations. *Neuroscience*, 71(4):949976, 1996.
51. RANDOLPH C, ROBERTS J W, TIERNEY M C, BRAVI D, MOURADIAN M M, CHASE T N: D-cycloserine treatment of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 8(3):198-205, 1994.
52. REBECK G W, MARZLOFF K, HYMAN B T: The pattern of NADPHdiaphorase staining, a marker of nitric oxide synthase activity, is altered in the perforant pathway terminal zone in Alzheimer's disease. *Neurosci-Lett*, 152(1-2):165-168, 1993.
53. REYMANN K, BRODEMANN R, KASE H, MATTHIES H: Inhibitors of calmodulin and protein kinase C block different phase of hippocampal longterm potentiation. *Brain Research*, 421:388-392, 1988.
54. SILVA A, PAYLOR R, WEHNER J, TONEGAWA S: Impaired spatial learning in a-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science*, 257:206-211, 1992.
55. SILVA A, STEVENS C, TONEGAWA S, WANG Y: Deficient hippocampal long-term potentiation in a-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science*, 257:201-206, 1992.
56. SIMONIAN N A, ELVHAGE T, CZERNIK A J, GREENGARD P, HYMAN B T: Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II immunostaining is preserved in Alzheimer disease hippocampal neurons. *Brain Res*, 657(1-2):294-299, 1994.
57. STAUBLI U, AMBROS-INGERSON J, LYNCH G: Receptor changes and LTP: an analysis using aniracetam, a drug that reversibly modifies glutamate (AMPA) receptors. *Hippocampus*, 2(1):49-57, 1992.
58. STAUBLI U: A peculiar form of potentiation in mossy fiber synapses. *Epilepsy Res (Suppl)*, 7:151-157, 1992.
59. SUZUKI T: Minireview. Protein kinases involved in the expression of longterm potentiation. *Int Journal of Biochemistry*, 26(6):735-744, 1994.

60. TERRIAN D, WAYS K, GANNON RA: presynaptic role for protein kinase C in hippocampal mossy fiber synaptic transmission. *Hippocampus*, 1(3):303-314, 1991.
61. THOMAS K, DAVIS S, LAROCHE S, HUNT S: Regulation of the expression of NR1 NMDA glutamate receptor subunits during hippocampal LTP. *Neuro Report*, 6(1):119-123, 1994.
62. WATKINS J, POOK P, SUNTER D, DAVIES J, HONORE T: Experiments with kainate and quisqualate agonists and antagonists in relation to the sub-classification of 'non-NMDA' receptors. En: Ben-Ari Y (ed). *Excitatory Amino Acids and Neural Plasticity*. Plenum Press, Nueva York, 1990.
63. WINGSTRÖM H, GUSTAFSSON B: Facilitation of hippocampal longlasting potentiation by GABA antagonists. *Acta Physiol Scand*, 125:159-172, 1985.
64. WINGSTRÖM H, GUSTAFSSON B: Postsynaptic control of hippocampal long-term potentiation. *Journal of Physiology*, 81(4):228-236, 1986.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACPD: 5 -Amino-6-Carboxi- 2,4-Dihidroxipirimidina
 AMPA: Acido alpha-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico
 AMPc: Adenosín monofosfato cíclico
 CaMKII: Proteín-cinasa II Ca^{2+} /calmodulin-dependiente
 CDP: Citidina 5'-Difosfato
 EGTA: [Etileno-bis(oxi-etilenonitrilo)] ácido tetra acético
 GABA: Acido γ -aminobutírico
 GAP-43: Proteína 43-kDa crecimiento-asociada
 LTP: *Long-term potentiation*
 MGluRs: Receptores glutamatérgicos metabotrópicos
 NADPH: β -Nicotín-adenín-difosfato, reducido
 NDGA: Acido nordihidroguaiarático
 NMDA: N-metil-D-aspartato.
 PKA: Proteín-cinasa A
 PKC: Proteín-cinasa C
 PPSE: Potencial postsináptico excitatorio