

# Transducción de la señal, pivote de la integración neurobiológica de la memoria. Una propuesta diferente a la tradicional hipótesis del sistema colinérgico

Armando Mansilla-Olivares\*

\*Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología (UIBCAR),  
Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F., México

Recibido en su versión modificada: 22 de febrero de 2005

Aceptado: 24 de febrero de 2005

## RESUMEN

*Los procesos neurofisiológicos, bioquímicos y moleculares descritos en la integración de la memoria, más que estar relacionados con la actividad colinérgica involucran fundamentalmente a neurotransmisores como la serotonina y el glutamato, así como a diversos canales iónicos como los del calcio y los del potasio. De hecho, los receptores de estos neurotransmisores están ligados directamente con la activación de la potenciación a largo plazo (LTP), mecanismo que contribuye a la preservación de la memoria. De esta forma que la activación del receptor 5HT desencadena una señal de transducción que al influenciar bioquímicamente al núcleo produce diversos cambios presinápticos con los que se expulsa al magnesio del área postsináptica, despolarizando a la neurona y activando simultáneamente a los receptores N-metil-D-Aspartato dependientes (NMDAR), contribuyendo en esta forma a perpetuar el mecanismo de LTP en sus distintas fases: LTP1 que depende de la activación de proteincinasas; LTP2 ligada con la traslación genética; y LTP3 relacionada con la transcripción. A este poderoso mecanismo de activación neuronal, se contrapone el fenómeno de depresión a largo plazo (LTD), que se inicia cuando la neurona pre-sináptica activa al inhibidor 1 en el momento en que detecta una reducción en el influjo de calcio, promoviendo en esta forma la defosforilación de una proteincinasa tipo II calcio calmodulin-dependiente, lo que detiene el desarrollo del proceso de autofosforilación y con ello, el mecanismo de LTP. No obstante lo difundido de la hipótesis colinérgica en la enfermedad de Alzheimer, la integración de la memoria depende fundamentalmente de la intervención de otros sistemas de neurotransmisión como lo son el serotonérgico y el glutamatérgico, los que no han sido debidamente considerados en el tratamiento de esta enfermedad; sin embargo más allá de estos sistemas, se encuentran los mecanismos de autofosforilación de distintas proteincinasas cuyo control, además de repercutir sobre la expresión genética, podría restituir algunos de los trastornos que afectan la función cognoscitiva.*

## Palabras clave:

*Fisiopatología cognoscitiva, transducción de la señal, potenciación a largo plazo, depresión a largo plazo, autofosforilación, fisiología, fisiopatología, memoria.*

## SUMMARY

*Neurophysiological, biochemical and molecular processes described in the integration of memory are closely related with neurotransmitters such as glutamate and serotonin (5HT) and with the function of calcium and potassium ion channels more than with cholinergic activity. In fact, glutamate and 5-HT receptors are closely related with Long-Term Potentiation (LTP) processes, the mechanism by which memory is preserved throughout time. That is, the activation of the 5-HT<sub>1</sub> receptor triggers a transduction signal that after influencing nuclear cell activity, provokes several presynaptic changes, which leads to the displacement of magnesium from the postsynaptic area depolarizing the neuron and leading to the activation of N-methyl-D-aspartate receptors (NMDA). As a whole, this process contributes to the support and perpetuation of LTP, which consists of the following processes: LTP1 that depends on protein kinase activity; LTP2 linked to translation of genes; and LTP3 closely related to genes transcription. On the opposite side but in perfect balance, we find the mechanism of Long-Term depression (LTD), which is triggered instead when the Ca<sup>++</sup> flow decreases in the presynaptic neuron activating the inhibitor-1 enzyme that promotes the dephosphorylation of a calmodulin-dependent protein kinase II and as a result, the inhibition of autophosphorylation and consequently of LTP too.*

*Despite the widespread dissemination of the cholinergic hypothesis in Alzheimer's disease, memory build up rather than involving acetylcholine essentially depends on the participation of other neurotransmitters such as 5-HT and glutamate, which have not been adequately considered in the treatment of this disease. However, beyond neurotransmission, it is the cellular mechanism of autophosphorylation of several protein kinases, the process susceptible of being activated or controlled by the action of distinct substances. In such a case, it would be possible to exert some influence on gene expression improving perhaps, some of the physiopathological deficits that characterize memory disruption.*

## Key words:

*Cognitive physiopathology, signal transduction, long-term-potentiation, long-term-depression, autophosphorylation, memory physiology and physiopathology.*

\*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Armando Mansilla Olivares. Hospital de Cardiología del CMN "Siglo XXI" del IMSS Av. Cuauhtémoc No. 330, México 06720, D.F. Teléfono: 5761 2547; Fax: 5282 5369. Correo electrónico: armanolnc@hotmail.com

## Introducción

Uno de los campos de la investigación que ha despertado un interés desmedido por su estudio y comprensión desde el surgimiento de la neurociencia hasta nuestros días, es el del análisis de los mecanismos que utiliza el sistema nervioso central (SNC) para construir y organizar los elementos más primitivos de la memoria y el pensamiento. El proceso se inicia con la captura de información del medio ambiente a través de grupos neuronales sensitivos periféricos que la vierten a su vez, en circuitos reverberantes encargados de procesar y transmitir los impulsos generados a otras áreas del sistema nervioso, produciendo una respuesta específica inmediata a través de un arco reflejo a nivel medular o bien, una respuesta mucho más elaborada, cuya integración involucra a estructuras como el hipocampo y la corteza cerebral. Este mecanismo se basa en la activación o inactivación de distintos complejos enzimáticos que alteran los flujos iónicos y que pueden desencadenar la inducción de genes que finalmente, producen modificaciones en las características funcionales y estructurales de las redes neuronales, dando lugar al desarrollo de memoria, cuya efectividad dependerá de la calidad de la percepción, almacenamiento y recuerdo. La variabilidad de la eficiencia con la que estos factores ejecutan la interpretación de la información obtenida, es la principal determinante de la repercusión de la memoria.

En este escrito, se propone una idea distinta a la ya tradicional hipótesis de las vías colinérgicas relacionadas con las alteraciones de la memoria en las enfermedades degenerativas del SNC, fundamentándola en la fisiología de los mecanismos de facilitación sináptica y en el papel que juegan los nucleótidos cílicos, el calcio, la calmodulina (CaM) y los receptores glutamatérgicos, en la producción de facilitación e inhibición a largo plazo, bajo estimulación hipocampal con alta y baja frecuencia. Se sustenta además, la importancia de la influencia del óxido nítrico en la neurona presináptica, al proporcionar el ambiente específico que mantiene la actividad de la LTP y se hace hincapié en el papel que juegan diversas proteincinasas GMPc-dependientes, en los mecanismos que perpetúan el estado de potenciación. Finalmente y con base en los conceptos vertidos, se abordan algunos aspectos fisiopatológicos de la cognición y la memoria y se propone una nueva hipótesis de tratamiento.

## Nucleótidos cílicos, proteínas reguladoras y memoria

Con base en los conceptos previamente publicados sobre los aspectos teóricos de la integración neurobiológica de la memoria, es posible considerar que la interacción que se lleva a cabo entre la serotonina o 5 OH-triptamina (5-HT) y su receptor específico, se relaciona directamente con la producción de facilitación sináptica y LTP en las neuronas del sistema mesolímbico y nigroestriado.<sup>1-4</sup> De hecho, existe evidencia suficiente para considerar al receptor 5-HT<sub>4</sub> de la serotonina, como una estructura postsináptica involucrada con el desarrollo de la memoria y la función cognoscitiva.<sup>5,6</sup> En los seres humanos el receptor 5-HT<sub>4</sub> y sus subtipos 5-HT<sub>4A</sub>, 5-HT<sub>4B</sub>, 5-HT<sub>4C</sub> y 5-HT<sub>4D</sub> de 387, 388, 380 y 360 residuos de

aminoácidos respectivamente, son codificados en la región q31-q33 del cromosoma 5, el que abarca por lo menos a cinco intrones.<sup>7-11</sup> Todos ellos se expresan dentro de las células del SNC, con excepción del receptor 5-HT<sub>4D</sub> que se localiza en el tracto gastrointestinal.<sup>7</sup>

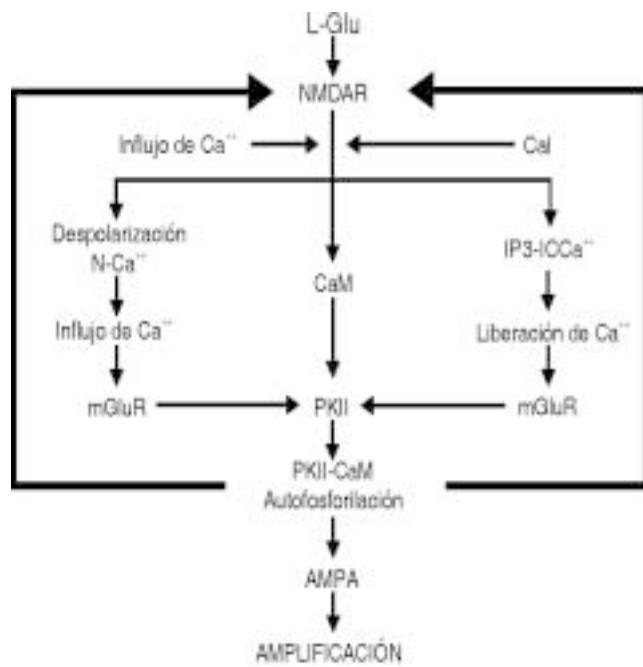
La 5-metoxitriptamina se encuentra entre los agonistas directos de los receptores 5-HT<sub>4</sub>, mientras que el tropisetrón y especialmente los compuestos SB204070 y el GR113808 son algunos de sus más poderosos antagonistas.<sup>12-14</sup> Los receptores 5-HT<sub>4</sub> se acoplan de manera positiva con el sistema de la adenilatociclasa (AC), permitiendo la fosforilación de varias cinasas de proteínas (PK) adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) dependientes.<sup>15-17</sup> Este proceso desencadena diferentes respuestas, como la liberación de dopamina (DA) y de acetilcolina (ACh), una y otra ligadas fundamentalmente con la actividad motora.<sup>18</sup> Sin embargo, a pesar de que los receptores 5-HT<sub>4</sub> están relacionados con el sistema de la ACh tanto en el tracto digestivo como dentro del SNC, su ausencia en el hipocampo de pacientes con enfermedad de Alzheimer, de ninguna manera explica la fisiopatología de esta enfermedad, ya que en la región hipocampal los receptores 5-HT<sub>4</sub> se expresan exclusivamente en neuronas de tipo no colinérgico.<sup>2,19</sup> Además, otra evidencia contundente estriba en el hecho de que en los modelos biológicos de memoria a corto y largo plazo, su función mejora considerablemente después de la administración de BIMU1, farmacoagonista de los receptores 5-HT<sub>4</sub> y antagonista de los 5-HT<sub>3</sub>.<sup>12</sup>

Cuando la 5-HT interactúa con el receptor 5-HT<sub>4</sub>, el sistema de la AC al sintetizar AMPc, activa a una PKA AMPc-dependiente (PKA-AMPc), disparando la fosforilación de varios sustratos de membrana, de entre los que destaca la proteína tipo-S de los canales iónicos voltaje dependientes del potasio (K<sup>+</sup>), provocando su cierre.<sup>20-23</sup> La disminución del eflujo de K<sup>+</sup> prolonga el potencial de acción, incrementa el influjo de calcio (Ca<sup>++</sup>) y activa a los canales N-voltaje dependientes del Ca<sup>++</sup> (N-Ca<sup>++</sup>), los que además de incidir en la longitud o duración del potencial de acción, incrementan el tiempo durante el cual se liberan los neurotransmisores (NT<sub>s</sub>) en la neurona sensitiva (Figura 1).<sup>24,25</sup> La PKA-AMPc además de promover la fosforilación de los canales del K<sup>+</sup> serotonina dependientes (K<sub>s</sub>), promueve la de los canales de activación temprana o iniciales del K<sup>+</sup>, denominados canales tipo A (K<sub>A</sub><sup>+</sup>), por lo que aumenta la amplitud del potencial de acción.<sup>21,26-28</sup> Como resultado, la fosforilación de los canales K<sub>s</sub> disminuye el eflujo de K<sup>+</sup> (I<sub>ks</sub>) retardando la repolarización, mientras que la fosforilación de los canales K<sub>A</sub><sup>+</sup> al bloquear el rápido eflujo inicial de K<sup>+</sup> (I<sub>KA</sub>), ensancha aún más el potencial de acción.<sup>1</sup> Todo este mecanismo da lugar a la activación de los canales N-Ca<sup>++</sup> y con ello, a un incremento en la duración del potencial de acción, a un retardo en la repolarización y a la formación del complejo Ca<sup>++</sup>/calmodulina (CaM). En consecuencia, la resistencia de entrada de la membrana al flujo de corriente aumenta, por lo que las despolarizaciones subsecuentes requerirán de un voltaje superior, provocando un incremento en la magnitud de los potenciales propagados subsecuentes.<sup>29-31</sup>

Las isoformas del receptor 5-HT<sub>4</sub> presentan en su región intracelular carboxiterminal y en su tercer asa también intracelular, una serie de sitios específicos que le permiten activar a una PKC AMPc dependiente (PKC-AMPc).<sup>7,11,17</sup> Cuando esta PKC fosforila a su vez a la sinapsina 1, sustrato de membrana

que mantiene fijo al citoesqueleto neuronal a las vesículas sinápticas (VS), pierde su afinidad por las mismas, las que además de distribuirse en el espacio intersináptico fusionándose entre sí, incrementan la cantidad disponible de NT<sub>s</sub> por impulso neuronal.<sup>32-35</sup> Los canales del K<sup>+</sup> de activación tardía (K<sub>D</sub>) también son fosforilados por la PKC-AMPc dependiente y promueve un decremento en el eflujo de K<sup>+</sup> (I<sub>K</sub>) y un incremento aún superior al ya provocado, en la longitud del potencial de acción (Figura 1). En concreto, el sustrato específico de la PKA-AMPc es la proteína K<sub>s</sub> y el sustrato específico de la PKC-AMPc es la proteína K<sub>A</sub>.<sup>20,26</sup> De tal forma que los receptores 5 HT<sub>4</sub> son capaces de promover dos diferentes respuestas:<sup>1,20,26</sup>

1. Inmediata, la cual depende de la fosforilación de los canales iónicos K<sub>D</sub> mediante una PKC-AMPc y es inhibida por la ciproheptadina, mientras que su activación al estimular la transmisión sináptica, desencadena facilitación a corto plazo (STF)



**Figura 1.** La 5-HT al ser liberada por la neurona presináptica, interactúa con el receptor postsináptico 5-HT<sub>4</sub> desencadenando: 1. Influxo de Ca<sup>++</sup> a través de los canales N-Ca<sup>++</sup> los que a su vez activan a los canales L mediante la intervención de una PK-CaM; 2. Activación de una PKA-AMPc la que al fosforilar a los canales K<sub>s</sub> y K<sub>A</sub> del K<sup>+</sup> bloquea el eflujo de este ion; 3. Fosforilación de una PKC-AMPc, la que promueve el cierre de los canales K<sub>D</sub>. La fosforilación y cierre de los canales K<sub>s</sub> y K<sub>A</sub> retarda la repolarización y ensancha el potencial de acción al disminuir el I<sub>K</sub><sub>s</sub> y el I<sub>K</sub><sub>A</sub> respectivamente, mientras que la fosforilación de los canales K<sub>D</sub>, al disminuir el I<sub>K</sub><sub>D</sub> facilita la neurotransmisión sináptica e incrementa la duración del potencial de acción. Finalmente, después de que la PKC-AMPc y la PKII-CaM fosforilan a la sinapsina I, se liberan las VS y con ello el NT.

2. Retardada, la que sólo se activa después de la interacción prolongada entre la 5-HT y su receptor al promover la fosforilación de los canales K<sub>s</sub> mediante una PKA-AMPc, lo que además de incrementar la excitabilidad neuronal y la resistencia de entrada, retarda la repolarización y desencadena el fenómeno de facilitación a largo plazo (LTF).<sup>36</sup>

La actividad de la PKA-AMPc también se desarrolla dentro del núcleo de la neurona aferente, activando mediante procesos de fosforilación, a proteínas reguladoras de la transcripción AMPc dependientes (TRP<sub>s</sub>-AMPc), las que al unirse a un elemento regulatorio del AMPc dentro del núcleo, inducen a genes efectores que codifican para proteínas que permiten el desarrollo de LTF en sus tres diferentes fases:<sup>37-40</sup>

1. Iniciación, que se caracteriza por suprimir la represión que promueve la proteína de unión 2 del elemento de respuesta del AMPc (CREB2) sobre la proteína de unión 1 del elemento de respuesta del AMPc (CREB1).
2. Consolidación, durante la cual se inducen genes de respuesta inmediata que incluyen al activador de la transcripción de la proteína facilitadora de la unión del AMPc (cIEBP) y a la hidroxilasa carboxiterminal de la ubiquitina.
3. Estabilización, en la que se presenta crecimiento y formación de nuevos contactos sinápticos.

**Fase de iniciación.** Al parecer los receptores 5-HT<sub>4</sub> estimulan la producción de AMPc en las neuronas sensitivas aferentes a los circuitos reverberantes y éste a su vez, activa a la subunidad catalítica (C<sub>s</sub>) de la PKA-AMPc al liberarla de su unión con la subunidad reguladora (R<sub>s</sub>).<sup>7,41</sup> De tal forma que se incrementa el número de C<sub>s</sub> en el citoplasma de las neuronas sensitivas, especialmente en las terminaciones sinápticas. Ante estas circunstancias, si la 5-HT continúa estimulando a su receptor presináptico, la C<sub>s</sub> se transloca al núcleo donde fosforila a uno o más factores de transcripción relacionados con la CREB, activando finalmente a genes inducibles AMPc dependientes. De hecho, se ha demostrado que uno de los sustratos de la PKA es una CREB, proteína indispensable en la generación de LTF (Figura 2).<sup>42,43</sup> Los factores de transcripción de las CREB pueden formar homo y heterodímeros al unirse con el ácido desoxirribonucleico (DNA) en un dominio bipartito de leucina básica.<sup>38</sup> Existen varios tipos de CREB por ejemplo, CREB2 que ha sido ampliamente estudiada en la *Aplysia* está presente aun durante el estado basal y no es inducida por la 5-HT a pesar de que presenta sitios de unión para una PKC-AMPc y para varias PK activadas por mitógenos (MAPK).<sup>44-46</sup> De hecho, CREB2 es un represor de la expresión de la CREB1, lo que significa que los genes regulados por AMPc son activados por la CREB1 y reprimidos por la CREB2 (Figura 2). La inhibición de la CREB2 mediante el uso de anticuerpos específicos, desencadena LTF por más de 24 horas después de un solo estímulo con 5-HT, en vez de la aplicación de los 5 estímulos que habitualmente requieren.<sup>38,40,42,47</sup> Por otro lado, la sobreexpresión de formas inhibitorias de la CREB1 bloquea la LTF, mientras que la sobreexpresión de formas activadoras de la CREB1 desencadena facilitación sináptica.<sup>47-49</sup> Bailey hace hincapié en que la sus-

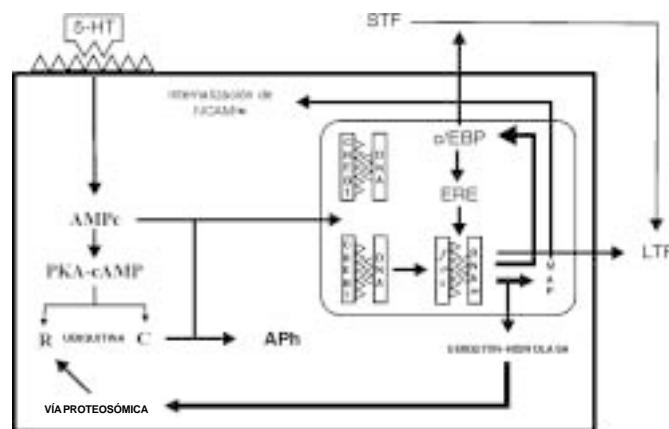
pensión de la represión mediada por la CREB2, puede representar el límite que demarca el final de la extensión de la LTF y el inicio del refuerzo que presenta la comunicación sináptica.<sup>38</sup> De tal forma que la activación de la CREB1 con la supresión simultánea de la represión establecida por la CREB2, desencadena el proceso de activación y disminuye el umbral de excitación para el disparo de la LTF.<sup>49</sup>

No obstante que el mecanismo molecular con el que la CREB2 reprime a la CREB1 aún se desconoce, parece ser que la activación persistente del receptor 5-HT<sup>4</sup> al promover la traslocación al núcleo de MAPK y de forskolin junto con la C<sub>s</sub> de la PKA-AMPc, suprime la actividad de la CREB2.<sup>43</sup> De hecho, se ha demostrado que tanto MAPK como forskolin pueden inducir modificaciones covalentes en la estructura de la CREB2.<sup>47,49</sup> Es precisamente por este motivo que el disparo de la LTF requiere de estímulos repetitivos de 5-HT. Con base en este concepto, si se considera por un lado que la CREB2 influencia la magnitud de las modificaciones sinápticas a través de su acción modulatoria sobre la activación de la PKA-AMPc mediada por la CREB1 y por otro lado, se acepta que esta influencia puede alterar las características de las señales emitidas por el núcleo, es posible afirmar entonces que el entrenamiento repetitivo y no el masivo, es mediado por los cambios fisiológicos que promueve la CREB1. Mientras que la expresión de las formas inhibitorias de la CREB bloquean la LTF sin alterar la STF, la sobreexpresión de los activadores de la CREB, incrementan la eficacia de la LTF durante el entrenamiento masivo.<sup>48-50</sup> En concreto, se puede concluir en primer lugar que el entrenamiento repetitivo produce una memoria más sólida y de mayor duración que el entrenamiento masivo y en segundo lugar, que el disparo de la LTF además de requerir del estímulo repetitivo de la 5-HT, necesita de un equilibrio muy preciso entre la función de la CREB2 y la CREB1.

**Fase de consolidación.** El AMPc también puede disparar la función de su propia c/ESP, la cual regula la función del gen c-fos al permitir la unión del elemento facilitador de la respuesta (ERE) con el promotor de c-fos.<sup>51,52</sup> De hecho, durante el estado basal las neuronas producen muy pocas moléculas del e/EBP, pero una vez que han recibido el estímulo repetitivo con 5-HT, además de incrementar su síntesis a través de la expresión de un gen de respuesta inmediata, transforman el fenómeno de STF en la fase tardía de la LTF (Figura 2).<sup>51-53</sup> Como resultado, la estimulación repetida con 5-HT desencadena la síntesis de AMPc durante no más de 2 horas, pero activa a una PKA-AMPc por más de 24 hrs aun sin la presencia del mismo AMPc o del estímulo directo de la 5-HT sobre su receptor.<sup>54-56</sup> Este proceso al parecer, es el resultado de la degradación de la R<sub>s</sub> de la PKA-AMPc a través de una vía proteosómica que requiere de adenosintrifosfato (ATP) y ubiquitina (Figura 2).<sup>55-58</sup> De tal forma que interviene la síntesis de nuevas proteínas mediante genes inducidos por la activación del receptor de la 5-HT. Uno de estos genes promueve la producción de la hidrolasa carboxiterminal de la ubiquitina, enzima que se encarga de la hidrólisis de los sitios multiubiquinados de la PKA-AMPc, los que forman parte precisamente de su R<sub>s</sub>, evitando con ello la acción inhibitoria que alguna otra proteína pudiera ejercer sobre la PKA.<sup>59</sup>

**Fase de estabilización.** La LTF depende en gran parte del crecimiento de los árboles dendríticos y de los contactos

sinápticos, al interactuar repetidamente la 5-HT con su receptor.<sup>54,60</sup> Esta interacción, desencadena mediante la intervención del AMPc un fenómeno de internalización de las moléculas de adhesión neuronal (NCAM) en la superficie de las neuronas sensitivas y simultáneamente, incrementa el número de cisternas y vesículas receptoras, así como la síntesis de las cadenas ligeras de la proteína clathrin.<sup>61-63</sup> Bailey fue de los primeros investigadores en proponer la posibilidad de que este fenómeno se encuentra relacionado con la inestabilidad de los contactos adhesivos entre los procesos axonales de las neuronas aferentes, provocando defasciculación.<sup>38,64</sup> A este proceso sigue la activación endocítica que redistribuye a los componentes de la membrana, permitiendo la formación de nuevos contactos sinápticos, los que son reforzados mediante la externalización de las NCAM.<sup>62,64-66</sup> Se trata de moléculas que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas y que se expresan estructuralmente con 8 o con 9 tiras  $\beta$ , facilitando una adhesión homofílica de tipo neurona/NCAM-NCAM/neurona mediante su región de unión conformada por tan sólo los residuos lisina 98 y leucina 99.<sup>66</sup> El fenómeno se lleva a cabo a través de una MAPK, la que al fosforilar a un sustrato específico de membrana, internaliza a las NCAM y por ende, provoca la defasciculación y crecimiento de las neuronas sensitivas. Existen por lo menos dos isoformas de NCAM, ambas dependientes de la actividad de la 5-HT, una ligada al fosfoinositol y la otra, una isoforma transmembrana (NCAM<sub>TM</sub>) constituida por los residuos de los aminoácidos prolina, ácido glutámico, serina y treonina (PEST) y dos dominios específicos para su fosforilación por parte de una MAPK.<sup>38,66</sup> La internalización de las NCAM<sub>TM</sub> desestabiliza



**Figura 2.** La PKA-AMPc además de fosforilar a los canales K<sub>s</sub> y K<sub>A</sub> activa a genes efectores capaces de iniciar un proceso de LTF en tres diferentes fases: 1. Iniciación, en la que la represión de la CREB2 permite la activación de la CREB1; 2. Consolidación, que se caracteriza porque genes de respuesta inmediata promueven la síntesis de la hidrolasa carboxiterminal de la ubiquitina que cataboliza a la R<sub>s</sub> y libera a la C<sub>s</sub> de la PKA-AMPc, induciendo su autofosforilación (APh); y 3. Estabilización, durante la cual la internalización de las NCAM<sub>TM</sub> permite la defasciculación y crecimiento de las arborizaciones dendríticas, mientras que con la posterior externalización de las mismas moléculas induce la conformación de nuevos contactos sinápticos.

inicialmente a las terminales sinápticas y posteriormente, al redistribuirse los componentes de la membrana, contribuye con la construcción de nuevos contactos sinápticos (Figura 2).

La movilización de las VS depende de la fosforilación de la sinapsina I (Figura 1); mientras que su fusión requiere de la interacción de 3 isoformas de la proteína de anclaje del factor soluble sensible al N-ethylmaleimida ( $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\tau$ -SNAPs) con (Figura 3):<sup>67-70</sup>

1. El dominio hidrofóbico de sus receptores (SNAREs).
2. Las proteínas de membrana asociadas a las vesículas (VAMP/Sinaptobrevina).
3. La proteína de 25 kDa asociada a los sinaptosomas (SNAP-25).
4. La sintaxina

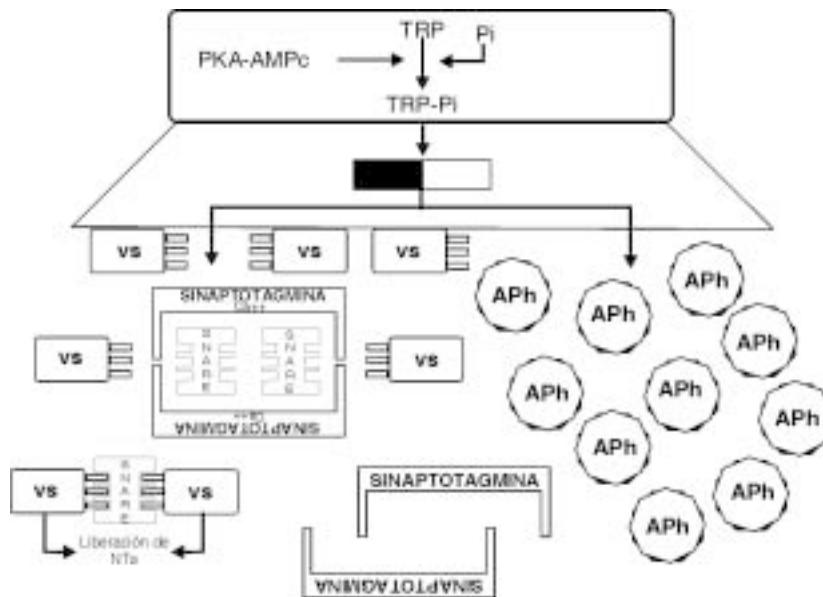
Inicialmente la sinaptotagmina, proteína de la superficie de las VS, al unirse al  $\text{Ca}^{++}$  facilita su interacción con el complejo de los SNAREs en la superficie de la membrana sináptica; posteriormente justo antes de la despolarización, el  $\text{Ca}^{++}$  se desprende de la sinaptotagmina permitiendo que la  $\alpha$ -SNAP se una a su SNARE específico fusionando las membranas de las VS, por lo que se liberan los NTs (Figura 3).<sup>71,72</sup> Este fenómeno además de permitir el almacenamiento y liberación de los NTs y de facilitar la formación de nuevos contactos sinápticos codificados por genes efectores, incrementa el número de receptores glutamatérgicos en la membrana presináptica, reforzando la plasticidad neuronal. Byrne y otros investigadores han demostrado que la LTF duplica el número de varicosidades neuronales, estimula el crecimiento longitudinal del axón e incrementa el número y tamaño de las VS en las neuronas sensitivas.<sup>73,74</sup>

En concreto, cuando la interneurona facilitatoria libera 5-HT, se inicia la STF mediante la activación de una PKA-AMPc, la que al promover la fosforilación de los canales iónicos del  $\text{K}^{+}$ , prolonga el potencial de acción y con ello, la duración del influjo iónico de  $\text{Ca}^{++}$ , permitiendo la liberación de una mayor cantidad del NT. Por otro lado, la activación repetida de las neuronas serotoninérgicas, puede disparar un proceso de LTF que depende de la intervención de una PKA. En este caso, la  $\text{C}_s$  de la PKA-AMPc, se transloca al núcleo donde induce la transcripción de la CREB2 y la consecuente activación de la CREB1 representan el mecanismo fundamental por el que se dispara el componente inicial de la LTF. Posteriormente, el fenómeno se estabiliza al intervenir genes tempranos de respuesta inmediata, como el que codifica a la hidrolasa-carboxiterminal de la ubiquitina, que promueve la proteólisis de la  $\text{R}_s$  de la PKA, prolongando la actividad enzimática de su  $\text{C}_s$ , aun después de haberse inactivado el AMPc (Figura 2). Este proceso finalmente, desencadena defasciculación de la membrana y como resultado, organización de nuevos contactos sinápticos.

### Calmodulina, receptores glutamatérgicos y sistema de la PKG

En general, es posible reconocer tres diferentes fases de facilitación sináptica:<sup>75</sup>

1. A corto plazo, en la que la potenciación posttetánica dura minutos y depende de un incremento en la liberación del NT en la terminación presináptica, como resultado de la aplicación de estímulos de alta frecuencia.



**Figura 3.** En el momento en que las TRPs-AMPc se unen al elemento regulador del AMPc dentro del núcleo, genes inductores codifican varias respuestas. Inicialmente el  $\text{Ca}^{++}$  se une a la sinaptotagmina evitando que las VS se fusionen entre sí, pero cuando el  $\text{Ca}^{++}$  es liberado de los SNARE, las  $\alpha$ -SNAP promueven la fusión de las VS permitiendo la liberación del NT. Finalmente, genes efectores sintetizan las enzimas necesarias para catabolizar a la  $\text{S}_R$  y liberar a la  $\text{S}_C$ , induciendo los procesos de autofosforilación de distintas PK, como la PKC-AMPc.

2. A plazo intermedio, cuya duración es de una a dos horas y se relaciona con el fenómeno de potenciación a corto plazo (STP).
3. A largo plazo ya que perdura por lapsos más prolongados, superiores a las 2 hrs y se relaciona con el inicio de la LTP.

Sin embargo, no obstante lo anterior y con fundamento en estudios genéticos e inhibitorios, la diferencia entre facilitación y potenciación a largo plazo, depende fundamentalmente de la participación del complejo CaM y de una PKII CaM dependiente (PKII-CaM).<sup>76-78</sup> La LTF por otro lado, es un proceso local en el que participa un grupo específico de neuronas pertenecientes a un número limitado de circuitos reverberantes localizados dentro de la misma vía sensitiva que capturó la información; mientras que la LTP es un fenómeno mucho más amplio, en el que se requiere de la interrelación de circuitos reverberantes localizados en distintas vías sensitivas, cuya vía final común es el hipocampo, específicamente el circuito integrado por:<sup>79</sup>

1. La vía perforante que interconecta al subiculum con las células granulares en el hilio del giro dentado.
2. La vía de fibras musgosas que abarca desde el hilio del giro dentado hasta las células de la región CA3 del hipocampo.
3. La vía colateral de Schaffer que principia en las neuronas de la región CA3 del hipocampo y termina en las células piramidales de la región CA1.

De tal forma que es precisamente el hipocampo, la región en la que la información que ha sido almacenada en las distintas estructuras del SNC es cotejada, traslapada y combinada, generando la evaluación, inferencia y creación de nuevos conceptos, mediante procesos de potenciación e inhibición.<sup>80,81</sup> Desde un punto de vista fisiológico, la LTP puede dividirse en:<sup>2,80,82,83</sup>

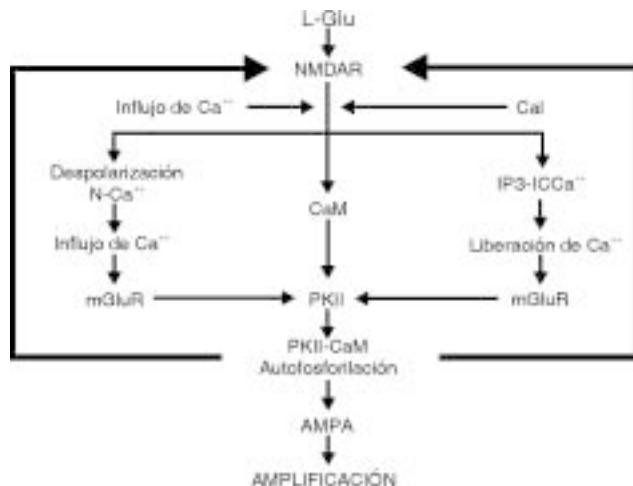
- a) LTP1: se trata de un proceso cuya duración va de 3 a 6 h y que puede detenerse mediante el uso de inhibidores de las PK.
- b) LTP2: que depende de actividad translacional y no transcripcional.
- c) LTP3: es un proceso mucho más complejo, que perdura por días y está ligado con la expresión genética.

En general, la LTP comparte 3 diferentes propiedades dentro de la región CA1 del hipocampo:<sup>83-85</sup>

1. **Cooperatividad:** se refiere a la actividad simultánea de más de una neurona, para alcanzar una reobase específica y de gran intensidad. Es el proceso mediante el cual se filtran los impulsos provenientes de despolarizaciones tetánicas de pequeños grupos de neuronas, impidiendo su actividad dentro de la región CA1 del hipocampo. Resulta evidente entonces, que se requiere alcanzar una gran y poderosa reobase para desencadenar la actividad de la vía perforante. La duración de este fenómeno depende fundamentalmente de los períodos entre los disparos estimulátórios, más que de la frecuencia del tétono.

2. **Asociatividad:** se trata de la sumación espacial de despolarizaciones de poca magnitud, que parten de distintas áreas neuronales pero que confluyen en la misma región dendrítica de las células piramidales de la vía perforante. Sólo las áreas neuronales de la zona CA3 carecen de esta característica.
3. **Especificidad:** para desencadenar el fenómeno de LTP la vía perforante sólo es activada mediante estímulos que recibe de vías selectivas y relacionadas directamente con los circuitos que en otras áreas sensitivas han sido activados en el momento de la tetanización. Se ha demostrado que la LTP en general, requiere de la participación de sinapsis glutamatérgicas en el hipocampo.<sup>86-89</sup>

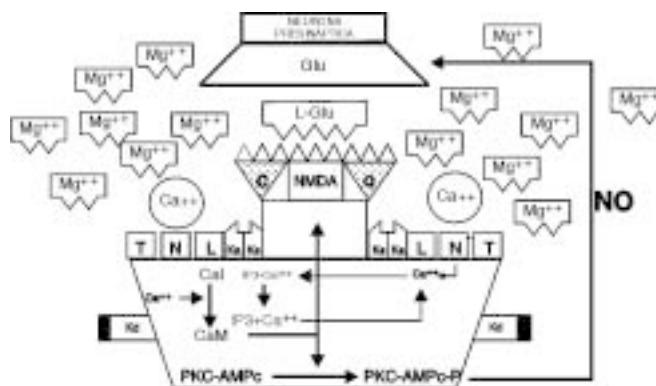
De hecho, los receptores D, L- $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4 isoxazolpropiónico dependientes (AMPAR) que corresponden a los receptores glutamatérgicos 1-4 (GluR 1-4), los receptores del ácido caínico que corresponden a los GluR5-7, los receptores N meti-D-aspartato dependientes (NMDAR) y los receptores metabotrópicos (mGluR) de las clases I, II y III, están involucrados en el desarrollo de LTP.<sup>75,87,90-92</sup> Mientras que los AMPAR y NMDAR activan a canales iónicos, los mGluR desencadenan una respuesta metabólica postsináptica que da lugar a la transducción bioquímica de la señal, ya que están acoplados con el sistema de proteínas G.<sup>93-95</sup> De tal manera que el segmento transmembranal 3 de los mGluR 1-6, representa el sitio de fosforilación sobre el que actúan la PKC-AMPc, la PKA-AMPc y la PKII-CaM.<sup>96-99</sup>



**Cuadro I.** La interacción entre el GluL y los NMDAR es indispensable para la producción de LTP. Al establecerse este contacto se despolariza la membrana y se produce un influjo de Ca<sup>++</sup> que desencadena: 1. La activación de los N-Ca<sup>++</sup>; 2. La liberación del Ca<sup>++</sup> contenido en su almacén intracelular (IP3-ICCa<sup>++</sup>); y 3. La formación del complejo CaM. El influjo de este ion a través de los canales asociados a los NMDAR y a los N-Ca<sup>++</sup> dispara la activación de los mGluR, los que promueven los mecanismos de autofosforilación que han sido previamente activados por una PK CaM. Finalmente una PKII-CaM reactiva de nuevo a los NMDAR y a los AMPAR amplificando la reacción, como si se tratara de un mecanismo de retroalimentación positiva.

Los NMDAR y los mGluR inician la LTP mediante la inducción de una PK específica, mientras que los AMPAR la mantienen al activar un proceso de autofosforilación.<sup>95</sup> Para que éste se lleve a cabo, es necesario estimular a los mGluR, los que permitirán la activación prolongada y persistente de una PKII-CaM, aun en la ausencia de estimulación subsiguiente o de Ca<sup>++</sup> en el medio.<sup>100-104</sup> Los NMDAR en cambio, sólo se encuentran en las espinas dendríticas que se encargan de localizar y capturar al Ca<sup>++</sup> durante la activación sináptica.<sup>16,88,105</sup> De tal forma que durante la fase inicial, el Ca<sup>++</sup> entra a través de los canales regulados por los NMDAR y los N-Ca<sup>++</sup>.<sup>83,87,106</sup> En este momento el Ca<sup>++</sup> es también liberado de un almacén intracelular, lo que provoca la reactivación de los NMDAR por medio del inositol1,4,5-trifosfato (IP3).<sup>91,107</sup> Al principio, el glutamato activa a los NMDAR desencadenando la señal inicial que consiste en un influjo transitorio de Ca<sup>++</sup>; posteriormente, la señal se magnifica cuando se libera Ca<sup>++</sup> de su almacén intracelular sensible a IP3 (Cuadro I).<sup>2,108-110</sup> Por lo que la activación de los NMDAR resulta indispensable para la función de los mGluR. Posteriormente, los receptores mGluR pueden activar a:<sup>111-113</sup>

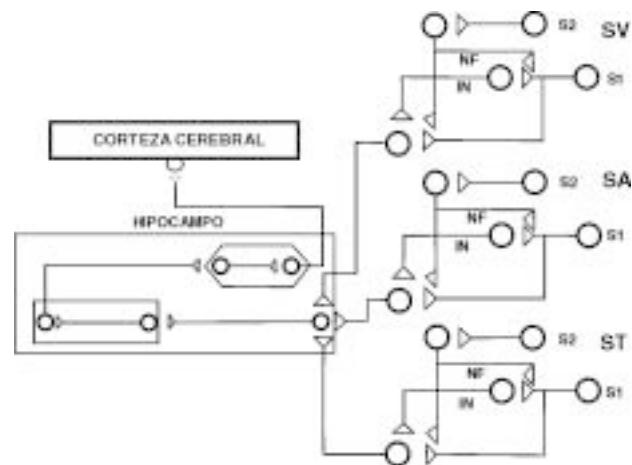
1. La fosfolipasa C dando lugar a diacilglicerol.
2. La fosfolipasa A2 liberando ácido araquidónico.
3. La AC incrementando los niveles de AMPc.



**Figura 4.** Para desencadenar el fenómeno de LTP, el hipocampo requiere de la confluencia de varios estímulos provenientes de distintas áreas del sistema nervioso, con características determinadas de cooperatividad, asociatividad y especificidad. La despolarización que este fenómeno produce es mediada por el L-Glu cuando se desplaza el Mg<sup>++</sup> de los NMDAR. En estas circunstancias la neurona postsináptica se despolariza permitiendo el influjo de Ca<sup>++</sup> a través de los NMDAR y de los N-Ca<sup>++</sup>. El Ca<sup>++</sup> también aumenta en el interior de la célula, al ser liberado de su almacén intracelular en el IP3 (IP3-ICCa<sup>++</sup>). Es en esta forma como los receptores no-NMDAR también están involucrados en el desarrollo de LTP. Por otro lado, la activación de los N-Ca<sup>++</sup> induce la formación del complejo CaM que da lugar a: 1. La reactivación de los NMDAR; 2. Un incremento en el influjo de Ca<sup>++</sup> con mayor liberación del mismo a partir del IP3-ICCa<sup>++</sup>; 3. La fosforilación de una PKC-AMPc que desencadena la síntesis y liberación de NO, el cual se desplaza de la región postsináptica a la neurona presináptica estimulando nuevamente la producción y liberación de L-Glu.

La amplificación de la señal provocada por el Ca<sup>++</sup> además de activar a los AMPAR activa a los NMDAR nuevamente, como si se tratara de un mecanismo de retroalimentación positiva (Cuadro I).

La PKII-CaM presenta 10 a 12 C<sub>s</sub> que se transforman en su estado activo cuando se inicia el influjo iónico de Ca<sup>++</sup> después de la activación de los NMDAR, cuya estructura forma un canal heterométrico compuesto por las subunidades NR1 y NR2A-D, dentro de un complejo incluido en las densidades postsinápticas, del cual forman parte algunas tirocincinasas que contribuyen a desencadenar un fenómeno de autofosforilación Ca<sup>++</sup>-dependiente.<sup>106,114-118</sup> Este proceso se prolonga mediante la refosforilación de sus C<sub>s</sub> que se defosforilan mediante la intervención de una fosfatasa y se refosforilan a través de un mecanismo de autofosforilación Ca<sup>++</sup>-independiente.<sup>119-121</sup> No obstante que las subunidades de una misma holoenzima son capaces de fosforilarse una a otra, una holoenzima por sí misma es incapaz de fosforilar a la subunidad de otra holoenzima, de tal forma que la magnitud del fenómeno depende del número de holoenzimas que inicialmente fueron fosforiladas por el influjo de Ca<sup>++</sup>.<sup>2,121,122</sup> Corresponde al sitio tre-286 de la PKII-CaM controlar el fenómeno de autofosforilación en su fase Ca<sup>++</sup>-independiente.<sup>88,122-124</sup> De tal forma que siempre que la tre-286 es defosforilada, la subunidad adyacente la refosforila de inmediato, por lo que una vez que la PKII-CaM se encuentra en la fase Ca<sup>++</sup>-independiente, promueve la fosforilación de una ser-627 del GluR1, incrementando la corriente iónica.<sup>122</sup>



**Figura 5.** El conocimiento aprendido se almacena en los circuitos reverberantes de los sistemas que capturaron el estímulo. Por ejemplo, en el momento en que se requiere recordar un concepto, los circuitos que almacenaron la información en el sistema visual (SV), auditivo (SA), táctil (ST) o cualquier otro circuito reverberante en algún otro sistema que contenga información sensitiva relacionada con ese concepto específico, envían impulsos aferentes a la vía perforante en el hipocampo; de tal manera que si la conjunción de las señales emitidas cumplen con las características específicas de cooperatividad, asociatividad y selectividad, desencadenan el fenómeno de LTP, evocando el concepto en forma integral.

La activación de los NMDAR además de requerir de una poderosa despolarización, necesitan la presencia de glutamato (L-Glu) en su área receptora, ya que esto permite detener el bloqueo voltaje dependiente que el magnesio ( $Mg^{++}$ ) provoca sobre el receptor.<sup>83,105,125,126</sup> Sin embargo, cuando la neurona presináptica despolariza al NMDAR mediante un poderoso impulso que llena las características de cooperatividad, asociatividad y especificidad, el  $Mg^{++}$  se expelle y el receptor es liberado del bloqueo (Figura 4). De tal forma que la información que sobre un mismo tópico se almacena en uno o en varios circuitos reverberantes en la vía visual, táctil, auditiva o en cualquier otra área del SNC, necesita interactuar en conjunto, hasta alcanzar las características funcionales específicas que le permitan despolarizar a las neuronas granulares postsinápticas del giro dentado y a las neuronas de las regiones CA3 y CA 1 hasta desencadenar LTP (Figura 5). Cuando un estímulo débil despolariza sólo a unas cuantas neuronas en estos circuitos, no puede provocar LTP por el reducido número de interacciones entre el L-Glu y su receptor y la imposibilidad de desligarse del bloqueo provocado por el  $Mg^{++}$ . Sin embargo, cuando diferentes grupos de circuitos reverberantes aferentes generan señales de entrada simultáneamente, pueden asociarse y potenciarse, y si en estas circunstancias integran la señal específica, desencadenan finalmente LTP. De tal forma que durante este fenómeno, la información almacenada procedente de las vías visuales, táctiles, auditivas o de cualquier otra región del SNC, es comparada, traslapada y/o combinada para evocar o crear un pensamiento (Figura 5).

Los receptores no-NMDA también intervienen en la fisiología de las fases iniciales de la LTP. Mientras que los AMPAR y los receptores ácido caínico-dependientes son esencialmente permeables al  $Na^{+}$ , los NMDAR lo son al  $Ca^{++}$ ; además, los AMPAR y los ácido caínico-dependientes son capaces de regular la excitabilidad sináptica durante la estimulación de baja frecuencia, ya que los canales dependientes de los NMDAR permanecen bloqueados por la presencia de  $Mg^{++}$ . La secuencia en general se lleva a cabo de la siguiente manera:<sup>2,83</sup> La despolarización permite el influjo iónico de  $Ca^{++}$  a través de los canales N-voltaje dependientes y como resultado, se forma el complejo CaM que activa a su vez a los canales dependientes de los NMDAR y a otras cascadas enzimáticas; finalmente el proceso, al aumentar la concentración de  $Ca^{++}$  intracelular y liberar más iones de  $Ca^{++}$  del IP3, reactiva a los canales N-voltaje dependientes, lo que provoca la liberación del NT y evita el bloqueo que el  $Mg^{++}$  ejerce sobre los NMDAR (Cuadro I). Entre tanto, mientras los estímulos de baja frecuencia en el hipocampo liberan L-Glu desencadenando un potencial postsináptico excitatorio (EPSP), el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) excita a los receptores GABA provocando la aparición de un potencial postsináptico inhibitorio (IPSP).<sup>75,127,128</sup> Inicialmente, la activación del receptor GABA<sub>A</sub> mediante una corriente de influjo de cloro (Cl<sup>-</sup>) desencadena un IPSP; posteriormente, el receptor GABA<sub>B</sub> lo mantiene mediante la influencia indirecta que ejerce sobre el eflujo de K<sup>+</sup>, hiperpolarizando a la neurona y facilitando con ello, el bloqueo que el  $Mg^{++}$  ejerce sobre el NMDAR.<sup>75,76,129</sup> Los estímulos de alta frecuencia en cambio, expelen al  $Mg^{++}$  del área receptora, activan a los canales iónicos dependientes de los NMDAR y restringen la función de los receptores GABA,

incrementando el influjo iónico de  $Ca^{++}$  y con ello, la activación de la PKII-CaM y de la PKC-AMPc. Por otro lado, parece ser que las corrientes paralelas mediadas por los AMPAR durante la LTP, se relacionan fundamentalmente con un incremento en el número o sensibilidad de estos receptores.<sup>102,104,130</sup> Durante la activación con estímulos de baja frecuencia, aparece un gran número de sinapsis silentes en la región CA1, la que en estas condiciones no expresa a los AMPAR pero sí a los NMDAR.<sup>130-132</sup> Sin embargo, cuando la estimulación es de alta frecuencia, estas sinapsis se activan por la expresión de los AMPAR y el disparo de los NMDAR. De hecho, la expresión de los AMPAR principia dentro de los primeros 10 a 15 min después de haber aplicado el estímulo inicial, probablemente como resultado de un fenómeno de sensibilización y externalización de receptores, más que como consecuencia de la activación de su síntesis, prolongando en esta forma la LTP.<sup>75</sup>

Todo este proceso en general, se inactiva mediante la intervención de varias proteinfosfatasas como la 1, la 2A (PP1 y PP2) y la 2B (PP2B o calcineurina); de hecho, estos sistemas enzimáticos abundan en las neuronas hipocampales y se ha demostrado que la PP1 y la PP2A son específicas para defosforilar los sitios de tre-286 de la PKII-CaM, revirtiendo su actividad constitutiva a un nivel basal.<sup>133-136</sup> Cuando la LTP principia, la PKA-AMPc fosforila a una proteína inhibidora conocida como inhibidor 1 (I1), que inactiva a la PP1 reforzando la autofosforilación de la PKII-CaM.<sup>137,138</sup> En cambio, cuando la PP2B promueve la defosforilación y consecuentemente la inactivación del I1, la función de la PKII-CaM regresa a su estado basal.<sup>139</sup> Al parecer, en el hipocampo los estímulos continuos de baja frecuencia debilitan las sinapsis y revierten la LTP.<sup>140-143</sup> De hecho, la disminución pero no la restricción del influjo de  $Ca^{++}$  a través de los NMDAR, al fosforilar al sitio tre-35 del I1 lo activa y como resultado, provoca la defosforilación y consecuente inactivación de la PP1, permitiendo que la autofosforilación de la PKII-CaM se prolongue.<sup>144</sup> Un bajo y restringido influjo de  $Ca^{++}$  en cambio, al estimular al complejo CaM activa a la calcineurina (PP2), enzima que defosforila al I1, permitiendo que la PP1 inhiba el fenómeno de autofosforilación de la PKII-CaM provocando LTD.<sup>135</sup> Por otro lado, un elevado influjo de  $Ca^{++}$  incrementa la concentración del AMPc que al activar a una PKA-AMPc fosforila al I1, el que al defosforilar a la PP1 facilita la autofosforilación de la PKII-CaM.<sup>105</sup> Es en esta forma como al detenerse el estado de autofosforilación de la PKII-CaM, disminuye el rango de fosforilación de los NMDAR así como el de los mGluR y AMPAR deprimiendo la LTP y dando lugar al fenómeno de LTD.<sup>145</sup>

Si bien el desarrollo de LTP depende de un fenómeno de despolarización postsináptica, su soporte a través del tiempo requiere tanto de la liberación presináptica de L-Glu como de la activación postsináptica de los NMDAR, de los AMPAR y de los mGluR, por lo que es imprescindible la presencia de un mecanismo de comunicación entre la región postsináptica y la presináptica.<sup>129,133,146</sup> El  $Ca^{++}$  por ejemplo, activa a algunos NT retrógrados mediante la influencia modulatoria que ejerce sobre las fosfolipasas C y A2, así como sobre la AC; sin embargo, el óxido nítrico (NO) es la única substancia que llena las características específicas para ejercer esta función, la cual requiere además de la síntesis de este radical en las espinas dendríticas de la neurona postsináptica, de su difu-

sión hacia las espinas presinápticas, en donde finalmente incrementa la liberación de L-Glu, facilitando con ello la interacción con su receptor específico.<sup>112,113,147</sup> El NO es un potente vasodilatador que se ha considerado como el mensajero retrógrado que regula la proyección en el tiempo de la LTP y quizás intervenga también, en la modulación de la LTD.<sup>148-151</sup> Su síntesis depende de la conversión de arginina a citrulina por medio de una oxidonítricosintasa (NOS) que se activa cuando sus sitios de serina son fosforilados por una PKC o por una PKII-CaM dentro de las neuronas del SNC.<sup>152-155</sup> Se han descrito dos isoformas de NOS:<sup>152,156</sup>

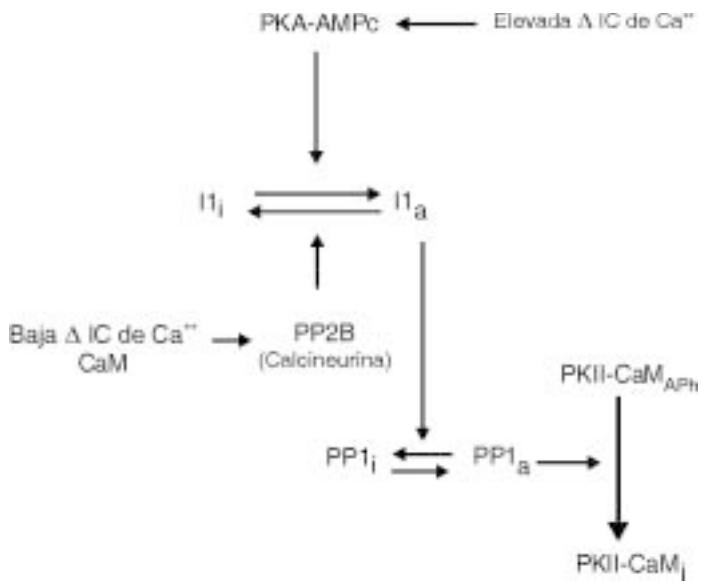
1. Una CaM-dependiente que predomina en el SNC, en los vasos sanguíneos cerebrales y en las plaquetas.
2. Otra que es CaM-independiente que se encuentra fundamentalmente en macrófagos y células endoteliales, y su activación depende de citocinas.

Las dos formas presentan sitios de reconocimiento para mononucleótido de flavina, dinucleótido de flavina y adenina, PKII-CaM, PKA-AMPc y PKC-AMPc; y si bien la tetrahidrobioptérida acelera su velocidad de reacción enzimática, su cofactor es el dinucleótido de nicotinamida y adenina.<sup>24,156</sup>

El NO se sintetiza en el momento en el que los requerimientos neuronales así lo demandan y difunde rápidamente de la célula postsináptica a la presináptica.<sup>157</sup> En este sitio reacciona con el átomo de hierro que forma parte del núcleo prostético de la guanilatociclasa (GC) y de otros sistemas enzimáticos relacionados con el transporte de electrones a nivel mitocondrial, modificando sus características tridimensionales.<sup>25,158</sup> La reacción que se lleva a cabo promueve la síntesis de guanosin-monofosfato cíclico (GMPc) que activa a una PKG-GMPc-dependiente (PKG-GMPc), la que al producir la liberación de L-Glu en la neurona presináptica, perpetúa la LTP.<sup>159-162</sup> Por este motivo, se considera a la molécula de GMPc como esencial en el desarrollo de LTP, al desencadenar una cascada de eventos bioquímicos que principian con la activación de una PKG-GMPc en la neurona presináptica.<sup>163-167</sup> Es decir, la GC en su estado soluble y la PKG-GMPc son el blanco sobre el que los NTs retrógrados ejercen su acción.

Siempre que la concentración de los nucleótidos cílicos sea la adecuada, el AMPc puede promover la activación cruzada de la PKG-GMPc o bien, el GMPc puede promover la activación cruzada de la PKA-AMPc.<sup>165,168-170</sup> De la misma forma, no obstante que algunos sustratos proteicos de la PKA-AMPc presentan una baja afinidad por la PKG-GMPc, la mayoría de los sustratos de ambas PKs muestran una alta afinidad por ambos sistemas enzimáticos, produciendo el fenómeno denominado convergencia:divergencia; de hecho, algunas de las proteínas que intervienen en la cascada de señalización del AMPc o del GMPc pueden ser fosforiladas también por la PKG-GMPc.<sup>165,167</sup> Es en esta forma como la PKA-AMPc y la PKG-GMPc reciben la influencia directa y cruzada de una y otra vías de señalización y no obstante que uno de los sustratos específicos sobre el que actúa la PKG-GMPc es la fosfodiesterasa (FDE) tipo 5, también la PKA-AMPc es capaz de activarla y degradar en esta forma tanto al GMPc como al AMPc, generando un mecanismo de retroalimentación negativa.<sup>24,163,169-171</sup>

Existen por lo menos dos isoformas de la PKG-GMPc:<sup>76,163,172</sup> La tipo I que puede expresarse en su forma  $\alpha$  o  $\beta$  (PKG $\alpha$  y PKG $\beta$ ); y la tipo II (PKGII). Las dos enzimas se encuentran dentro del SNC e inician su autofosforilación en presencia de Mg<sup>++</sup>, independientemente de la concentración del sustrato específico, participando en la activación de los canales del K<sup>+</sup>, la liberación de NTs, la decodificación de la señal que desencadenan los NTs retrógrados y la regulación de las corrientes de Ca<sup>++</sup>.<sup>173-176</sup> De hecho, la sobreexpresión de la PKG I o simplemente su inducción, disminuye la concentración intracelular de Ca<sup>++</sup> o bien, evita la respuesta a la acción de agonistas que inducen la liberación de este ion a partir del IP3, probablemente por su interacción con fosfolamban.<sup>177,178</sup> El proceso de autofosforilación de la PKG $\alpha$  incrementa el grado de disociación del GMPc de sus sitios de unión de alta afinidad y simultáneamente, incrementa la afinidad del AMPc por los mismos sitios de unión, promoviendo el proceso de activación cruzada.<sup>179</sup> La PKG $\beta$  y la PKGII también comparten esta función, pero su autofosforilación requiere de una concentración nueve veces mayor de GMPc que la que necesita la PKG $\alpha$ .<sup>180</sup> Otro sustrato específico sobre el que actúa la PKG es la fosfoproteína de 32,000 Da regulada por dopamina y AMPc (DARPP-32), la que al ser activada fosforila al I1 facilitando la autofosforilación de la PKII-AMPc (Cuadro II).<sup>181-184</sup>



**Cuadro II.** El I1 al cambiar de su estado inactivo (I1<sub>i</sub>) a su estado activo (I1<sub>a</sub>) defosforila a la PP1 transformándola de su estado activo (PP1<sub>A</sub>) a su estado inactivo (PP1<sub>i</sub>), por lo que permite que la PKII-CaM permanezca en autofosforilación (PKII-CaM<sub>APH</sub>). Cuando la concentración intracelular de Ca<sup>++</sup> se incrementa (ΔIC de Ca<sup>++</sup>) se sintetiza AMPc activando a una PKA-AMPc la que a su vez, transforma al I1<sub>i</sub> en I1<sub>a</sub>; como resultado la PP1A cambia a PP1<sub>i</sub>, prolongando con ello el estado de PKII-CaM<sub>APH</sub>. Una baja ΔIC de Ca<sup>++</sup> en cambio, activa a la calcineurina (PP2B) mediante el complejo CaM, la que al transformar al I1<sub>a</sub> en I1<sub>i</sub> permite que la PP1<sub>A</sub> defosforile a la PKII-CaM cambiándola a su estado inactivo (PKII-CaM<sub>i</sub>), inhibiendo con ello el proceso de APh.

## Hipótesis propuesta

Con base en estos conceptos, se puede considerar que los trastornos cognoscitivos y de la memoria son el resultado de alteraciones anatómicas o funcionales, congénitas o adquiridas, en la interrelación que se establece entre los sistemas de neuroconducción, receptores celulares y/o genes, provocando una respuesta que repercute sobre la función neuronal reverberante y en los mecanismos de potenciación y depresión a largo plazo. Sin embargo, curiosamente y de acuerdo con los avances más recientes que se han realizado acerca de los fenómenos fisiológicos que intervienen en la construcción de la memoria, estas alteraciones involucrarían fundamentalmente a redes neuronales cuyos NTs son el aspartato, el glutamato y la serotonina, así como a receptores tanto AMPA dependientes como independientes sin consolidar o apoyar, al menos desde un punto de vista molecular, la posibilidad de que la Ach juegue un papel determinante en el desarrollo de estos procesos.

La neuroconducción requiere, además de la integridad estructural de las neuronas, de sinapsis intactas y de circuitos reverberantes capaces de sostener los mecanismos bioquímicos locales, así como los procesos de potenciación y depresión a largo plazo. De tal forma que la memoria puede verse afectada cuando la recepción, la transmisión y/o la percepción del estímulo sufren algún tipo de trastorno estructural y/o bioquímico.

Los receptores celulares por otro lado, son elementos esenciales en la construcción de la memoria. Un decremento en la expresión, síntesis o liberación de algún NT, puede repercutir en forma determinante en su desarrollo. Las alteraciones en la interacción que se lleva a cabo entre la sustancia inductora y su receptor ya sea por pérdida de la afinidad o de la selectividad o bien, una alteración en los mecanismos de transducción de la señal a nivel de la proteína reguladora o en la unidad catalítica, son factores potencialmente capaces de producir trastornos en la función tanto de almacenamiento como de integración.

El material genético finalmente, representa el asiento sobre el que se consolida la memoria a largo plazo, por lo que la inhibición en la síntesis proteica o un bloqueo en la translación o transcripción, pueden repercutir considerablemente en la construcción de la memoria.

Cuando alguno de estos fenómenos fisiopatológicos llega a involucrar a dos o tres grupos de circuitos reverberantes, es poco probable que pueda detectarse algún tipo de manifestación clínica. En cambio, cuando son involucrados varios grupos neuronales simultáneamente, se presentan trastornos en el desarrollo o pérdida de la memoria a corto plazo, porque la información que se obtiene del medio ambiente es almacenada por el SNC en circuitos neuronales pertenecientes a las vías sensitivas que la capturaron, lo que puede implicar prácticamente cualquier área anatómica sensitiva y quizás también motora de su estructura. Por otro lado, cuando el proceso patológico envuelve a los mecanismos de potenciación y depresión a largo plazo la capacidad de aprendizaje, almacenamiento por tiempo prolongado, recuerdo, evaluación, comparación, asociación e inferencia sufren diferentes grados de alteración. A pesar de esto y de las evidencias clínicas y moleculares con las que se cuenta actualmente, es

poco lo que se conoce acerca de la fisiopatología de la memoria. El síntoma específico evidentemente es la amnesia de distintos tipos y grados de severidad; sin embargo, cuando en la práctica clínica cotidiana a este síntoma se le asocia un trastorno en el pensamiento abstracto o el juicio, se le califica como estado de demencia. La principal dificultad para el clínico, estriba en diferenciar entre un déficit en la capacidad de almacenamiento y un déficit en el proceso de asociación y recuerdo, porque la adquisición de memoria no necesariamente implica un cambio en la conducta del sujeto.

En la enfermedad de Alzheimer por ejemplo, en la que se presenta un trastorno primario y temprano de la memoria, se ha demostrado que la proteína  $\beta$ -amiloide altera la función de los canales del  $K^+$ ; trastorna la localización y actividad enzimática de la PKC-AMPc y de la PKII-CaM; y disminuye en 20% la eficacia, especificidad y alta afinidad de los mecanismos de captación de la acetilcolina (Ach) en las terminaciones nerviosas, fundamentalmente del hipocampo, en donde se lleva a cabo la LTP.<sup>185-189</sup> El deterioro que sufren los mecanismos de recaptura de la Ach permite que la acetilcolinesterasa (Ach-E), al prolongarse el contacto entre la enzima y su sustrato, degrade un número superior de moléculas del NT, por lo que en el tratamiento de esta enfermedad se han utilizado desde agentes colinérgicos hasta inhibidores de la Ach-E y aunque los resultados clínicos no han sido dramáticos, por lo menos permiten estabilizar en cierta forma al paciente, durante períodos de magnitud impredecible, a lo largo de la evolución natural de la enfermedad.<sup>190-195</sup> Esta observación clínica aparentemente contribuye a sustentar la hipótesis colinérgica, pero no explica la fisiopatología de los trastornos de la cognición, los que se han intentado fundamentar en la degeneración que se presenta en las neuronas de Meynert y la pérdida de las proyecciones corticales de axones colinérgicos, que más que provocar un déficit en la concentración de Ach en el SNC, alteran la función de proteíncinasas relacionadas con otros sistemas de neuroconducción. Es decir, la Ach no contribuye por sí misma en la construcción e integración de los mecanismos de almacenamiento y recuerdo, pero interviene en cierta forma, en la generación de los estímulos que en las células blanco, decodifican la información. En cambio, sí se ha demostrado que en la enfermedad de Alzheimer se presenta por un lado, pérdida indiscriminada de neuronas serotoninérgicas en la corteza temporal, en el núcleo dorsal del rafe y en el hipocampo produciendo degeneración neuronal del pie hacia el soma y por otro lado, una importante disminución de la actividad glutamatérgica.<sup>196-199</sup> También se ha establecido una relación inversamente proporcional entre el deterioro del estado mental y la extensión de las redes neurofibrilares, con un decremento de los NMDAR, AMPAR y de los mGluR en las regiones subiculares, CA1 del hipocampo y en la zona parahipocampal.<sup>84,200,201</sup> Como se puede observar, a pesar de que la hipótesis colinérgica de la enfermedad de Alzheimer de ninguna manera sustenta los déficits anatómico, bioquímico y funcional que desencadenan las alteraciones de la memoria y la demencia, la tendencia en la práctica clínica a prescribir inhibidores de la ACh-E se ha incrementado en los últimos años.<sup>202</sup> De hecho, la aparente mejoría clínica que se obtiene con el uso de estos fármacos, más que depender de la influencia que ejercen sobre la fisiopatología de la memoria, es el resultado de un incremento

en la atención, factor indispensable en la adquisición de la información, pero no en el almacenamiento de la misma.

Por este motivo, es esencial tomar en consideración la importancia que revisten en la construcción de la memoria la intervención de los sistemas serotoninérgico y glutamatérgico, la participación de los canales iónicos del  $Ca^{++}$  y del  $K^{+}$ , la activación de los distintos receptores involucrados y la expresión genética, sin los que la integración del proceso jamás se llevaría a cabo.<sup>203-205</sup> Pero aun más allá de todos estos factores, deben considerarse los mecanismos de autofosforilación a través de quienes es posible prolongar la actividad enzimática, promover y modular la expresión genética, modificar las características fenotípicas de la célula, intervenir en los mecanismos de transducción de la señal, participar en la producción de NT retrógrados reactivando la función postsináptica y proyectar con todo ello en el tiempo, a la LTP, entre otras funciones extranucleares. Como se observa en el cuadro I, en realidad el estímulo inicial que activa la cascada de eventos enzimáticos con los que principia el fenómeno de autofosforilación es el influjo iónico de calcio, cuya magnitud y duración son esenciales en la transducción de la señal, siempre y cuando permanezcan íntegros el resto de elementos que forman parte del proceso.<sup>206</sup> Dado que la PKII-CaM puede promover la reactivación de sus propios dominios de autofosforilación en el momento en que son defosforilados, pero al mismo tiempo es incapaz de activar los dominios de otras moléculas, la magnitud del fenómeno es directamente proporcional al número de iones de  $Ca^{++}$  presentes en el medio en el momento preciso; de la misma manera, a mayor número de moléculas de PKII-CaM activas, mayor será la amplitud y duración de la LTP. Con base en este concepto, puede afirmarse que el control farmacológico del influjo o de la proporción de iones de  $Ca^{++}$  dentro de las neuronas aferentes al hilio del giro dentado, podría modular las características de la potenciación y con ello quizás, las manifestaciones clínicas en un determinado grupo de pacientes. La autofosforilación también puede regularse mediante la activación o la reactivación controlada de los sitios adyacentes o del mismo sitio de tre-286 en la PKII-CaM o bien, del sitio ser-627 de los GluR1 o el sitio ser-880 del GluR2 propiciando con ello los fenómenos de cooperatividad, asociatividad y de especificidad.<sup>207</sup> Por otro lado, con el objeto de evitar la participación directa o indirecta de los mecanismos genéticos, la autofosforilación podría proyectarse en el tiempo aunque no en magnitud, al activar la vía proteosómica ATP-dependiente de la ubiquitina, la que al incrementar la concentración de la  $S_c$  de la PKA-AMPc, activaría la LTF y la posibilidad de desencadenar los procesos de cooperatividad y asociatividad o bien, el mismo efecto se podría producir al inhibir la función de la  $S_R$  y/o estimular la de la  $S_C$ . Otro sitio susceptible de activación es precisamente el de los receptores 5-HT<sub>4</sub>, los que al activar a una PKA-AMPc fosforilan a los canales  $K_s$  y  $K_A$ , incrementando la disponibilidad de iones de  $Ca^{++}$  y con ello, la formación del complejo CaM que terminaría por disparar el resto de eventos de la cascada de transducción.

En la actualidad y aun con los grandes avances científicos que se han logrado en campos como el de la genética, no se debe perder de vista la importancia del papel que juegan los sistemas serotoninérgico y glutamatérgico más que el colinérgico, en la construcción e integración de la memoria y abrir con

ello, la posibilidad de ejercer al menos una cierta influencia real, en los trastornos de la cognición que caracterizan a diferentes entidades nosológicas, sobre todo aquéllas en las que se mantiene en cierta forma, la integridad estructural y anatómica de los circuitos reverberantes y de las áreas centrales relacionadas con el proceso.

## Referencias

1. Mansilla OA, Barajas MH, Argüero SR. Theoretical aspects of the neurobiological integration of memory. *Med Hypothesis* 2000;54:51-58.
2. Bliss TTV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993;361:31-39.
3. Ooménech T, Beleta J, Femández AG, Gristwood RW, Cruz SF, Tolosa E, Palacios JM. Identification and characterization of serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptor binding sites in human brain: comparison with other mammalian species. *Mol Brain Res* 1994;21:176-180.
4. Mengod G, Vilaró MT, Raurich A, Lopez-Gimenez JF, Cortes R, Palacios JM. 5-HT receptors in mammalian brain: receptor autoradiography and in situ hybridization studies of new ligands and newly identified receptors. *Histochem J* 1996;28:747-758.
5. Fontana OJ, Daniels SE, Wong EHK, Clark RO, Eglen RM. The effects of novel, selective 5-hydroxytryptamine (5-HT)<sub>4</sub> receptor ligands in rat spatial navigation. *Neuropharmacology* 1997;45:689-696.
6. Terry AV, Buccafusco JL, Jackson WJ, Predergast MA, Fontana OJ, Wong EH, et al. Enhanced delayed matching performance in younger and older macaques administered the 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist, RS17017. *Psychopharmacol*
7. Blondel O, Gastineau M, Oahmoune Y, Langlois M, Fischmeister R. Cloning, expression, and pharmacology of four human 5-hydroxytryptamine<sub>4</sub> receptor isoforms produced by alternative splice in the carboxyl terminus. *J Neurochem* 1998;70:2252-2261.
8. Bockaert J, Claeysen S, Oumuis A. Molecular biology, function and pharmacological role of 5-HT<sub>4</sub> receptors. *Arch Pharmacol* 1998;351:4.
9. Cichol S, Kespér K, Propping P, Nothen MM. Assignment of the human serotonin 4 receptor gene (HTR<sub>4</sub>) to the long arm of chromosome 5 (5q31-33). *Mol Membr Biol* 1998;15:75-78.
10. Claeysen S, Faye P, Sebben M, Lemaires BJ, Oumuis A, Taviaux S. Assignment of 5 hydroxytryptamine receptor (HTR<sub>4</sub>) to human chromosome 5 bands q31-q33 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1997;78:133-134.
11. Gerald C, Adham A, Kao HT, Olsen MA, Laz TM, Schechter LE, et al. The 5-HT<sub>4</sub> receptor: molecular cloning and pharmacological characterization of two splice variants. *EMBO J* 1995;14:2806-2815.
12. Barnes NM, Sharp TA. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacol* 1999;38:1083-1152.
13. Yamaguchi T, Suzuki M, Yamamoto M. Facilitation of acetylcholine release in rat frontal cortex by indeloxazin hydrochloride: involvement of endogenous serotonin and 5-HT<sub>4</sub> receptors. *Arch Pharmacol* 1997;356:712-720.
14. Yamaguchi T, Suzuki M, Yamamoto M. Evidence for 5-HT<sub>4</sub> receptor involvement in the enhancement of the acetylcholine release by p-chloroamphetamine. *Brain Res* 1997;772:95-101.
15. Claeysen S, Sebben M, Journot L. Cloning, expression and pharmacology of the mouse 5 HT<sub>4L</sub> receptor. *FEBS Lett* 1996;398:19-25.
16. Fagni L, Oumuis A, Sebben M, Bockaert J. The 5-HT<sub>4</sub> receptor subtype inhibits K<sup>+</sup> current in culiculine neurones via activation of a cyclic AMP-dependent protein kinase. *Br J Pharmacol* 1992;105:973-979.
17. Van den Wyngaert I, Gommere W, Verhasselt P, Jurzak M, Leysen J, Luyten W, Bender E. Cloning and expression of a human serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptor cDNA. *J Neurochem* 1997;69:1810-1819.
18. Eison AS, Eison MS, Iversen SO. The behavioral effects of a novel substance P analogue following infusion into the ventral tegmental area and like substantia nigra of the rat brain. *Brain Res* 1992;238:137-152.
19. Reynolds GP, Mason SL, Meldrum A, De Keczer S, Panes H, Eglen RM, Wong E. H.5 Hydroxytryptamine (5-HT)<sub>4</sub> receptors in post mortem human brain tissue: Distribution, pharmacology and effects of neurodegenerative diseases. *Br J Pharmacol* 1995;114:993-998.
20. Goldsmith BA, Abrams TW. cAMP modulates multiple K<sup>+</sup> currents, increasing spike duration and excitability in *Aplysia* sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci* 1991;89:11481-11485.
21. Klein M, Camardo J, Kandel ER. Serotonin modulates a specific potassium current in the sensory neurons that show presynaptic facilitation in *Aplysia*. *Proc Natl Acad Sci* 1982;79:5713-5717.
22. Kukuljan M, Labarca P, Latorre R. Molecular determinants of ion conduction and inactivation in K<sup>+</sup> channels. *Am J Physiol* 1995;268:C535-C556.
23. Walsh JP, Byrne JH. Forskolin mimics and blocks a serotonin-sensitive decreased K<sup>+</sup> conductance in tail sensory neurons of *Aplysia*. *Neurosci Lett* 1984;52:7-11.

24. Bredt OS, Ferris ChO, Snyder SH. Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase and calcium/calmodulin protein kinase; identification of flavin and calmodulin binding sites. *J Biol Chem* 1992;267:10976-10981.
25. Hawkins RO, Kandel ER, Siegelbaum SA. Learning to modulate transmitter release: Themes and variations in synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 1993;16:625-665.
26. Hochner B, Kandel ER. Modulation of a transient K<sup>+</sup> current in the pleural sensory neurons of *Aplysia* by serotonin and cAMP: implications for spike broadening. *Proc Natl Acad Sci* 1992;89:11476-11480.
27. Shuster MJ, Camardo JS, Siegelbaum SA, Kandel ER. Cyclic AMP-dependent protein kinase closes the serotonin-sensitive K<sup>+</sup> channels of *Aplysia* sensory neurones in cell-free membrane patches. *Nature* 1985;313:392-395.
28. Siegelbaum SA, Camardo JS, Kandel ER. Serotonin and cyclic AMP close single K<sup>+</sup> channels in *Aplysia* sensory neurones. *Nature* 1982;299:413-417.
29. Alkon DL. Calcium-mediated reduction of ionic currents: A biophysical memory trace. *Science* 1984;226:1037-1045.
30. Alkon DL, Lederhendler I, Shoukimas JJ. Primary changes of membrane currents during retention of associative learning. *Science* 1982;215:693-695.
31. Alkon DL, Shoukimas JJ, Heldman E. Calcium-mediated decrease of a voltage-dependent potassium current. *Biophys J* 1982;40:245-250.
32. Bahler M, Benfenati F, Valtorta F, Greengard P. The synapsins and the regulation of synaptic function. *Bioassays* 1990;12:259-263.
33. Ghirardi M, Braha O, Hochner S, Montarolo PG, Kandel ER, Oale N. Roles of PKA and PKC in facilitation of evoked and spontaneous transmitter release at depressed and nondepressed synapses in *Aplysia* sensory neurons. *Neuron* 1992;9:479-489.
34. Un JW, Sugimori M, Llinás RR, McGuinness TL, Greengard P. Effects of synapsin I and calcium-calmodulin-dependent protein kinase I on spontaneous neurotransmitter release in the squid giant synapse. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:8257-8261.
35. Südhof TC, Jahn R. Proteins of synaptic vesicles involved in exocytosis and membrane recycling. *Neuron* 1991;6:665-677.
36. Goda Y. Memory mechanisms. A common cascade for long-term memory. *Curr Opin Neurobiol* 1995;5: 136-138.
37. Greengard P, Jen J, Narin AC, Stevens CF. Enhancement of glutamate response by cAMP dependent protein kinase in hippocampal neurons. *Science* 1991;253:1135-1137.
38. Sailey CH, Sartsch O, Kandel ER. Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:13445-13452.
39. Iida K, Iwata E, Asanuma M, Asanuma NS, Gómez-Vargas M, Miyazaki I, et al. Effects of repeated cyclosporin A administration on imidodipropionitrile-induced dyskinesia and TRE-/CRE-binding activities in rat brain. *Neurosci Res* 1998;30:185-193.
40. Lamprecht R. CREB: a message to remember. *Cell/Mol Life Sci* 1999;55:554-563.
41. Aszódi A, Mülér U, Friedrich P, Spatz HC. Signal convergence on protein kinase A as a molecular correlate of learning. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:5832-5836.
42. Dash PK, Hochner B, Kandel ER. Injection of the cAMP-responsive element into the nucleus of *Aplysia* sensory neurons blocks long-term facilitation. *Nature* 1990;345:1718-1721.
43. Micheau J, Riedel G. Protein kinases: which one is the memory molecule? *Cell Mol Life Sci* 1999;55:534-548.
44. Deisseroth K, Bito H, Tsien RW. Signaling from synapse to nucleus: postsynaptic CREB phosphorylation during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 1996;16:89-101.
45. Bito H, Oeissereth K, Tsien RW. CREB phosphorylation and dephosphorylation: a Ca<sup>2+</sup> and stimulus duration-dependent switch for hippocampal gene expression. *Cell* 1996;87:1203-1214.
46. Pearson G, Robinson F, Gibson TB, Xu B-E, Karandikar M, Berman K, et al. Mitogen activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001;22:153-183.
47. Karpinski BA, Morle GO, Huggenvik J, Uhler MD, Leiden JM. Molecular cloning of human CREB-2: an ATF/CREB transcription factor that can negatively regulate transcription from the cAMP response element. *Proc Natl Acad Sci* 1992;89:4820-4824.
48. Yin JCP, Del Vecchio M, Zhou H, Tully T. CREB as a memory modulator: induced expression of a dCREB2 activator isoform enhances long-term memory in *Drosophila*. *Cell* 1995;81:107-115.
49. Barco A, Alarcon JM, Kandel ER. Expression of constitutively active CREB protein facilitates the late phase of long-term potentiation by enhancing synaptic capture. *Cell* 2002;108:689-703.
50. Kogan JH, Frankland PW, Blendy JA, Coblenz J, Marowitz Z, Schütz G, et al. Spaced training induces normal long-term memory in CREB mutant mice. *Curr Biol* 1997;7:1-11.
51. Metz R, Ziff E. cAMP stimulates the C/EBP-related transcription factor rNFIL-6 to translocate to the nucleus and induce c-fos transcription. *Genes & Dev* 1991;5:1754-1766.
52. Rajadhyaksha A, Barczak A, Macías W, Leveque JCh, Lewis SE, Konradi Ch. L-type Ca<sup>2+</sup> channels are essential for glutamate-mediated CREB phosphorylation and c-fos gene expression in striatal neurons. *J Neurosci* 1999;19:6348-6359.
53. Abel T, Martín KC, Bartsch O, Kandel ER. Memory suppressor genes: inhibitory constraints on the storage of long-term memory. *Science* 1998;279:338-341.
54. Michael O, Martin CK, Seger R, Ning MM, Baston R, Kandel E. Repeated pulses of serotonin required for long-term facilitation activate mitogen-activated protein kinase in sensory. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:1864-1869.
55. Greenberg SM, Castellucci VF, Bayley H, Schwartz JH. A molecular mechanism for long term sensitization in *Aplysia*. *Nature* 1987;329:62-65.
56. Hegde AN, Goldberg AL, Schwartz JH. Regulatory subunits of cAMP-dependent protein kinases are degraded after conjugation to ubiquitin: a molecular mechanism underlying long term synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:7436-7440.
57. Herskoff A, Ganot O, Sudakin V, Oahan A, Cohen LH, Luca FC, et al. Components of a system that ligates cyclin to ubiquitin and their regulation by the protein kinase cdc2. *J Biol Chem* 1994;269:4940-4946.
58. Rechsteiner M. Natural substrates of the ubiquitin proteolytic pathway. *Cell* 1991;66:615-618.
59. Hegde AN, Inokuchi K, Pei W, Casadio A, Ghirardi M, Chain OG, Martin KC, et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase is an immediate-early gene essential for long term facilitation in *Aplysia*. *Cell* 1997;89:115-126.
60. Bailey CH, Chen M. Time course of structural changes at identified sensory neuron synapses during long-term sensitization in *Aplysia*. *J Neurosci* 1989;9:1774-1780.
61. Doherty P, Cohen J, Walsh FS. Neurite outgrowth in response to transfected N-CAM changes during development and is modulated by polysialic acid. *Neuron* 1990;5:209-219.
62. Hu Y, Barzilai A, Chen M, Bailey CH, Kandel ER. 5-HT and cAMP induce the formation of coated pits and vesicles and increase the expression of clathrin light chain in sensory neurons of *Aplysia*. *Neuron* 1993;10:921-929.
63. Rose SPR. Cell-adhesion molecules, glucocorticoids and long-term-memory formation. *Trends Neurosci* 1995; 18:502-506.
64. Bailey CH, Kandel ER. Structural changes and the storage of long-term memory in *Aplysia*. *Canad J Physiol Pharmacol* 1999;77:738-747.
65. Rose SPR. Glycoproteins and memory formation. *Behav Brain Res* 1995;66:73-78.
66. Kasper C, Rasmussen H, Kastrup JS, Ikemizu S, Jones EY, Berezin V, et al. Structural basis of cell-cell adhesion by NCAM. *Nature Struct Biol* 2000;7:389-393.
67. Osten P, Srivastava S, Inman G, Vilim FS, Khatri L, Lee LM, et al. The AMPA receptor GluR2 terminus can mediate a reversible, ATP dependent interaction with NSF and a- and p-SNAPs. *Neuron* 1998;21:99-110.
68. Kim CH, Liao D, Lau LF, Huganir RL. SynGAP: a synaptic RasGAP that associates with the PSD-95/SAP90 protein family. *Neuron* 1998;20:683-691.
69. Noel J, Ralph GS, Pickard L, Williams J, Molnar E, Uney JB, et al. Surface expression of AMPA receptors in hippocampal neurons is regulated by an NSF dependent mechanism. *Neuron* 1999;23:365-376.
70. Kim CH, Lisman JE. A labile component of AMPA receptor-mediated synaptic transmission is dependent on microtubule motors, actin, and N-ethylmaleimide-sensitive factor. *J Neurosci* 2001;21:4188-4194.
71. Almers W. Synapses. How fast can you get? *Nature* 1994;367:682-683.
72. Calakos N, Bennett MK, Peterson KE, Scheller RH. Protein-protein interactions contributing to the specificity of intracellular vesicular trafficking. *Science* 1994;263:1146-1149.
73. Byrne JH. Cellular analysis of associative learning. *Physiol Rev* 1987;67:329-439.
74. Nazif FA, Byrne JH, Cleary LJ. cAMP induces long-term morphological changes in sensory neurons of *Aplysia*. *Brain Res* 1991;539:324-327.
75. Riedel G, Wetzel W, Reymann KG. Comparing the role of metabotropic glutamate receptors in long-term potentiation and in learning and memory. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatr* 1996;20:761-788.
76. Mons N, Guillou JL, Jaffard R. The role Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-stimulable adenylyl cyclase as molecular coincidence detectors in memory formation. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:525-533.
77. Reymann KG, Brodemann R, Kase H, Matthies H. Inhibitors of calmodulin and protein kinase C block different phases of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res* 1988;461:388-391.
78. Saitoh T, Schwartz JH. Phosphorylation-dependent subcellular translocation of a Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent protein kinase produces an autonomous enzyme in *Aplysia* neurons. *J Cell Biol* 1985;100:835-842.
79. Vinogradova OS. Hippocampus as comparator: Role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. *Hippocampus* 2001;11:578-598.
80. Ito I, Hidaka H, Sugiyama H. Effects of KN-62, a specific inhibitor of calcium/calmodulin dependent protein kinase II, on long-term potentiation in the rat hippocampus. *Neurosci Lett* 1991;121:119-121.
81. Martínez JL Jr, Derrick BE. Long-term potentiation and learning. *Annu Rev Psychol* 1996;47: 173-203.
82. Jeffery KL, Abraham WC, Dragunow M, Mason SE. Induction of Fos-like immunoreactivity and the maintenance of long-term potentiation in the dentate gyrus of unanesthetized rats. *Mol Brain Res* 1990;8:267-274.
83. Rison RA, Stanton PK. Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors: foundations of memory and neurologic disease? *Neurosci Biobehav Rev* 1995;19: 533-552.
84. Penney JB, Maragos WF, Greenamyre JT, Debowey DL, Hollingsworth Z, Young AB. Excitatory amino acid binding sites in the hippocampal region

- of Alzheimer's disease and other dementias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990;53:314-320.
85. Voronin L, Byzov A, Kleschevnikov A, Kozhemyakin M, Kuhnt U, Volgushev M. Neurophysiological analysis of long-term potentiation in mammalian brain. *Behav Brain Res* 1995;66:45-52.
86. Diamond SJ, Bergles ED, Jahr EC. Glutamate release monitored with astrocyte transporter currents during LTP. *Neuron* 1998;21:425-433.
87. Makhinson M, Chotiner KL, Watson BJ, O'Dell JT. Adenylyl cyclase activation modulates activity-dependent changes in synaptic strength and  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase autoprophosphorylation. *J Neurosci* 1999;19:2500-2510.
88. Malenka RC, Nicoll RA. NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci* 1993;16:521-527.
89. Tiunova A, Anokhin K, Rose SP, Mileusnic R. Involvement of glutamate receptors, protein kinases, and protein synthesis in memory for visual discrimination in the young chick. *Neurobiol Learn Mem* 1998;65:425-433.
90. Richter-Levin G, Canevari L, Bliss T. Long-term potentiation and glutamate release in the dentate gyrus: links to spatial learning. *Behav Brain Res* 1995;66:37-40.
91. Malenka RC. Postsynaptic factors control the duration of synaptic enhancement in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 1991;6:53-60.
92. Iheng F, Gallagher JP. Metabotropic glutamate receptors are required for the induction of long-term potentiation. *Neuron* 1992;9:163-172.
93. Rickard NS, Ng KT. Blockade of metabotropic glutamate receptors prevents long-term memory consolidation. *Brain Res Bull* 1995;36:355-359.
94. Soderling TR. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 11: role in learning and memory. *Mol Cell Biochem* 1993;127/128:93-101.
95. Fujii S, Mikoshiba K, Kuroda Y, Ahmed TM, Kato H. Cooperativity between activation of metabotropic glutamate receptors and NMDA receptors in the induction of LTP in hippocampal CA 1 neurons. *Neurosci Res* 2003;46:509-521.
96. Huang YY, Colley PA, Routtenberg A. Postsynaptic then presynaptic protein kinase C activity may be necessary for long-term potentiation. *Neurosci* 1992;49:819-827.
97. McGlade-McCullough E, Yamamoto H, Tan S-E, Brickey DA, Soderling TR. Phosphorylation and regulation of glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *Nature* 1993;362:640-642.
98. Raymond LA, Blackstone CD, Huganir RL. Phosphorylation and modulation of recombinant GluR6 glutamate receptors by cAMP-dependent protein kinase. *Nature* 1993;361:637-641.
99. Tarazi IF, Baldessarini JR. Regional localization of dopamine and ionotropic glutamate receptors subtypes in striatal to limbic brain regions. *J Neurosci Res* 1999;55:401-410.
100. Bashir II, Bortolotto ZA, Davies CH, Berretta N, Irving AJ, Seal AJ, et al. Induction of LTP in the hippocampus needs synaptic activation of glutamate metabotropic receptors. *Nature* 1993;363:347-350.
101. Hudmon A, Schulman H. Neuronal  $Ca^{2+}$ /Calmodulin-dependent protein kinase 11: The role of structure and autoregulation in cellular function. *Annu Rev Biochem* 2002;71:473-510.
102. Yasuda H, Barth AL, Stellwagen D, Malenka RC. A developmental switch in the signaling cascades for LTP induction. *Nat Neurosci* 2003;6:15-16.
103. Miller SG, Kennedy MB. Regulation of brain type 11  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase by autoprophosphorylation: a  $Ca^{2+}$ -triggered molecular switch. *Cell* 1986;44:861-870.
104. Barría A, Muller D, Derkach V, Griffith LC, Soderling TR. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 1997;276:2042-2045.
105. Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *TINS* 2000;23:75-80.
106. Strack S, Colbran RJ. Autophosphorylation-dependent targeting of calcium/calmodulin-dependent protein kinase 11 by the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor. *J Biol Chem* 1998;273:20689-20692.
107. Malenka RC. Long-Term potentiation- A decade of progress? *Neurosci* 1999;85:1870-1876.
108. Bayer KU, De Konnick P, Leonard AS, Hell JW, Schulman H. Interaction with the NMDA receptor locks CaMKII in an active conformation. *Nature* 2001;411:801-805.
109. Leonard AS, Lim LA, Hemsworth DE, Horne MC, Hell JW. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase 11 is associated with the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:3239-3244.
110. Lu W, Man H, Ju W, Trimble WS, Mac Donald JF, Wang YT. Activation of synaptic NMDA receptors induces membrane insertion of new AMPA receptors and LTP in cultured hippocampal neurons. *Neuron* 2001;29:243-254.
111. Piomelli D, Greengard P. Bidirectional control of phospholipase A2 activity by  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase 11, cAMP-dependent protein kinase, and casein kinase 11. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:6770-6774.
112. Opazo P, Watabe AM, Grant SGN, O'Dell TJ. Phosphatidylinositol3-kinase regulates the induction of long-term potentiation through extracellular signal-related kinase-independent mechanisms. *J Neurosci* 2003;23:3679-3688.
113. Rameh LE, Cantley LC. The role of phosphoinositide 3-kinase lipid products in cell function. *J Biol Chem* 1999;274:8347-8350.
114. Hudmon A, Schulman H. Structure-function of the multifunctional  $Ca^{2+}$ /Calmodulin-dependent protein kinase 11. *Biochem J* 2002;364:593-611.
115. Means RA. Regulatory cascades involving calmodulin-dependent protein kinase. *Mol Endocrinol* 2000;14:4-13.
116. Shen K, Meyer T. Dynamic control of CaMKII translocation and localization in hippocampal neurons by NMDA receptor stimulation. *Science* 1999;284:162-166.
117. Tezuka T, Umemori H, Akiyama T, Nakanishi S, Yamamoto I. PSD-95 promotes Fyn mediated tyrosine phosphorylation of the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:435-440.
118. Zheng F, Striker GE, Esposito C, Lupia E, Striker LJ, Gringrich MB, et al. Tyrosine kinase potentiates NMDA receptor current by reducing tonic zinc inhibition. *Nat Neurosci* 1998;1:185-191.
119. Fagnou DD, Tuchek JM. The biochemistry of learning and memory. *Mol Cell Biochem* 1995;149-150:279-286.
120. Hudmon A, Aronowski J, Kolb SJ, Waxham MN. Interaction and self-association of  $Ca^{2+}$ /Calmodulin-dependent protein kinase 11 during autoprophosphorylation. *J Biol Chem* 1996;271:8800-8808.
121. Lisman JE, McLntyre ChC. Synaptic plasticity: A molecular memory switch. *Curr Biol* 2001;11:R788-R791.
122. Lisman J. The CaM kinase 11 hypothesis for the storage of synaptic memory. *Trends Neurosci* 1994;17:406-412.
123. Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, Silva AJ. Autophosphorylation at Thr86 of the a calcium-calmodulin kinase 11 in LTP and learning. *Science* 1998;279:807-873.
124. Clark KA, Randall AD, Bortolotto ZA, Bashir ZI, Collingridge GL. Mechanisms involved in hippocampal LTP: implications for retrograde messengers. *Semin Neurosci* 1993;5:189-195.
125. Kullmann DM, Siegelbaum SA. The site of expression of NMDA receptor-dependent LTP: new fuel for and old tire. *Neuron* 1995;15:997-1002.
126. Ascher P, Nowak L. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurons in culture. *J Physiol* 1988;399:247-266.
127. Huang YY, Colino A, Selig DK, Malenka RC. The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science* 1992;255:730-733.
128. Kauer JA, Malenka RC, Nicoll RA. A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuron* 1988;1:911-917.
129. Wyllie DJA, Manabe T, Nicoll RA. A rise in postsynaptic  $Ca^{2+}$  potentiates miniature excitatory postsynaptic currents and AMPA responses in hippocampal neurons. *Neuron* 1994;12:127-138.
130. Kim CH, Chung HJ, Lee HK, Huganir RL. Interactions of the AMPA receptor subunit GluR2/3 with PDZ domains regulates hippocampal long-term depression. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:11725-11730.
131. Isaac JRT, Nicoll RA, Malenka RC. Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron* 1995;15:427-434.
132. Liao D, Hessler NA, Malinow R. Activation of postsynaptically silent synapses during pairing induced LTP in CA 1 region of hippocampal slice. *Nature* 1995;375:400-404.
133. Hunter T. Protein kinases and phosphatases: The yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell* 1995;80:225-236.
134. Sistiaga A, Sánchez-Prieto J. Protein phosphatase 1 and 2A Inhibitors prolong the switch in the control of glutamate release by group I metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem* 2000;75:1566-1574.
135. Strack S, Barban MA, Wadzinski BE, Colbran RJ. Differential inactivation of postsynaptic density-associated and soluble  $Ca^{2+}$ /Calmodulin-dependent protein kinase 11 by protein phosphatases 1 and 2A. *J Neurochem* 1997;68:2119-2128.
136. d'Alcantara P, Schiffman SN, Swillens S. Bidirectional synaptic plasticity as a consequence of interdependent  $Ca^{2+}$ -controlled phosphorylation and dephosphorylation pathways. *Eur J Neurosci* 2003;17:2521-2528.
137. Westphal RS, Tavalin SJ, Un JM, Alto NM, Fraser IOC, Langeberg LK, et al. Regulation of NMOA receptors by an associated phosphatase-Kinase signaling complex. *Science* 1999;285:93-96.
138. Blitzer RO, Connor JH, Brown GP, Wong T, Shenolikar S, Iyengar R, Landau EM. Gating of CaMKII by cAMP-regulated protein phosphatase activity during LTP. *Science* 1998;280:1940-1942.
139. Chen HX, Otmakhov N, Strack S, Colbran RJ, Usman JE. Is persistent activity of calcium/calmodulin-dependent kinase required for the maintenance of LTP? *J Neurophysiol* 2001;85:1368-1376.
140. Kameyama K, Hey-Kyoung L, Bear FM, Huganir RL. Involvement of a postsynaptic protein kinase A substrate in the expression of homosynaptic Long-Term Depression. *Neuron* 1998;21:1163-1175.
141. Lee HK, Kameyama K, Huganir RL, Bear MF. NMOA induces long-term synaptic depression and desphosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron* 1998;21:1151-1162.
142. Levenes C, Herve O, Crepel F. Long-term depression of synaptic transmission in the cerebellum: cellular and molecular mechanisms revisited. *Prog Neurobiol* 1998;55:79-91.
143. Elgersma Y, Fedorov NB, Ikonen S, Choi ES, Elgersma M, Carvalho OM, Giese KP, Silva AJ. Inhibitory autoprophosphorylation of CaMKII controls PSD association, plasticity, and learning. *Neuron* 2002;36:493-505.
144. Riedel G. If phosphatases go up, memory goes down. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:549-553.
145. Mulkey RM, Endo S, Shenolikar S, Malenka RC. Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 1994;369:486-488.
146. Sjostrom PJ, Turrigiano GG, Nelson SB. Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* 2003;39:641-654.
147. Weiler IJ, Hawrylak N, Greenough WT. Morphogenesis in memory formation: synaptic and cellular mechanisms. *Behav Brain Res* 1995;66:1-6.

148. Jaffrey RS, Snyder HS. NITRIC OXIDE: A neural messenger. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1995;11:417-440.
149. Snyder HS, Jaffrey RS, Zakhary R. Nitric oxide and carbon monoxide: parallel roles as neural messengers. *Brain Res Rev* 1998;26:167-175.
150. Wu J, Wang Y, Rowan JM, Anwyl R. Evidence for involvement of the cGMP-Protein kinase G signaling system in the induction of Long-Term Depression, but not Long-Term Potentiation, in the dentate gyrus *in vitro*. *J Neurosci* 1998;18:3589-3596.
151. Trivedi B, Kramer RH. Patterning reveals the mechanism of long-term suppression of cyclic nucleotides in target neurons. *J Neurosci* 2002;22:8819-8826.
152. Moneada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-135.
153. Klann E, Thiels E. Modulation of protein kinases and protein phosphatases by reactive oxygen species: Implications for hippocampal synaptic plasticity. *Prog Neuro Psychiatr Biol Psychiatr* 1999;23:359-376.
154. Roberson ED, English JD, Sweat JJ. A biochemist's view of long-term potentiation. *Learn Mem* 1996;3:1-24.
155. Lu Y, Kandel ER, Hawkins RO. Nitric oxide signaling contributes to late-phase LTP and CREB phosphorylation in the hippocampus. *J Neurosci* 1999;19:10250-10261.
156. Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, Leaf CO, Wishnok JS. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry* 1988;27:8706-8711.
157. Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Prog Neurobiol* 2001;64:51-68.
158. Marletta MA. Nitric oxide: biosynthesis and biological significance. *Trends Biol Sci* 1989;14:488-492.
159. Arancio O, Kandel ER, Hawkins RO. Activity-dependent long-term enhancement of transmitter release by presynaptic 3', 5'-cyclic GMP in cultured hippocampal neurons. *Nature* 1995;376:74-80.
160. Chang FLF, Greenough WT. Transient and enduring morphological correlates of synaptic activity and efficacy change in the rat hippocampal slice. *Brain Res* 1984;309:35-46.
161. Kawada T, Toyosato A, Islam O, Yoshida Y, Imai S. cGMP-kinase mediates cGMP- and cAMP-induced  $Ca^{2+}$  desensitization of skinned rat artery. *Eur J Pharmacol* 1997;323:75-82.
162. Grasi S, Petrossi VE. Role of nitric oxide in long-term potentiation of the rat medial vestibular nuclei. *Neurosci* 2000;101:157-164.
163. Boulton LC, Irving JA, Potier B, Garthwaite J, Collingridge LG. The nitric oxide-cyclic GMP pathway and synaptic depression in rat hippocampal slices. *Eur J Neurosci* 1994;6:15281535.
164. Hartell NA. Inhibition of cGMP breakdown promotes the induction of cerebellar long-term depression. *J Neurosci* 1996;16:2881-2890.
165. Jiang H, Shabb JB, Corbin JO. Cross-activation: overriding cAMP/cGMP selectivities of protein kinases in tissues. *Biochem Cell Biol* 1992;70:1283-1289.
166. Lei S, Jackson FM, Jia Z, Roder J, Bai O, Orser AB, MacDonald FJ. Cyclic GMP-dependent feedback inhibition of AMPA receptors is independent of PKG. *Nat Neurosci* 2000;3:559-565.
167. Wang X, Robinson PH. Cyclic GMP-dependent protein kinase and cellular signaling in the neurons system. *Int Soc Neurochem* 1997;68:443-456.
168. Santschi L, Reyes-Harde M, Stanton PK. Chemical induced, activity-dependent L TO elicited by simultaneous activation of PKG and inhibition of PKA. *J Neurophysiol* 1999;82:1577-1589.
169. Shabb JB, Ng L, Corbin JO. One aminoacid change produces a high affinity cGMP-binding site in cAMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 1990;265:16031-16034.
170. Corbin JO, Turko IV, Beasley A, Francis SH. Phosphorylation of phosphodiesterase-5 by cyclic nucleotide-dependent protein kinase alters its catalytic and allosteric cGMP-binding activities. *Eur J Biochem* 2000;267:2760-2767.
171. Schlichter OJ. Cyclic GMP-dependent protein phosphorylation in mammalian cerebellum. *Prog Brain Res* 1982;56:105-123.
172. Son H, Lu Y, Zhuo M, Arancio O, Kandel E, Hawkins R. The specific role of cGMP in hippocampal L TP. *Learn Mem* 1998;5:231-245.
173. Christopoulos A, El-Fakahany EE. The generation of nitric oxide by G protein-coupled receptors. *Life Sci* 1999;64:1-15.
174. Meriney SO, Gray OB, Pilar GR. Somatostatin-induced inhibition of neuronal  $Ca^{2+}$  current modulated by cGMP-dependent protein kinase. *Nature* 1994;369:336-339.
175. Mery P-F, Lohmann SM, Walter U, Fischmeister R.  $Ca^{2+}$  current is regulated by cyclic GMP dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:1197-1201.
176. Pineda J, Kogan JH, Aghajanian GK. Nitric oxide and carbon monoxide activate locus coeruleus neurons through a cGMP-dependent protein kinase: involvement of a nonselective cationic channel. *J Neurosci* 1996;16:1389-1399.
177. Pfeifer A, Nürnberg B, Kamm S, Uhde M, Schultz G, Ruth P, Hofmann F. Cyclic GMP dependent protein kinase blocks pertussis toxin-sensitive hormone receptor signaling pathways in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1995;270:9052-9059.
178. Ruth P, Wang GX, Boekhoff I, May B, Pfeifer A, Penner R, et al. Transfected cGMP-dependent protein kinase suppresses calcium transients by inhibition of inositol 1,4,5-trisphosphate production. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:2623-2627.
179. Gamm DM, Francis SH, Angelotti TP, Corbin JD, Uhler MD. The type 11 isoform of cGMP dependent protein kinase is dimeric and possesses regulatory and catalytic properties distinct from the type I isoforms. *J Biol Chem* 1995;270:27380-27388.
180. Beltman J, Sonnenburg WK, Beavo JA. The role of protein phosphorylation in the regulation of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Mol Cell Biochem* 1993;127:239-253.
181. Detre JA, Nairn AC, Aswad DW, Greengard P. Localization in mammalian brain of G substrate, a specific substrate for guanosine 3',5'-cyclic monophosphate-dependent protein kinase. *J Neurosci* 1984;4:2843-2849.
182. Snyder GL, Fisone G, Greengard P. Phosphorylation of DARPP-32 is regulated by GABA in rat striatum and substantia nigra. *J Neurochem* 1994;63:1766-1771.
183. Walaas SI, Aswad DW, Greengard PA. Dopamine and cyclic AMP regulated phosphoprotein enriched in dopamine innervated brain regions. *Nature* 1983;301:69-71.
184. Walaas SI, Greengard P. DARPP-32, a dopamine and adenosine 3':5'-monophosphate regulated phosphoprotein enriched in dopamine innervated brain regions. 1. Regional and cellular distribution in the rat brain. *Neuroscience* 1984;4:84-98.
185. McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 1995;102:419-457.
186. Masliah E, Cole G, Shimohama S, Hansen L, DeTeresa R, Terry RD, Saitoh T. Differential involvement of protein kinase C isozymes in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 1990;10:2113-2124.
187. Etcheberrigaray R, Gison GE, Alkon DL. Molecular mechanisms of memory and the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci* 1994;747:245-255.
188. Buxbaum JD, Gandy SE, Cicchetti P, Ehrlich ME, Czernik AJ, Fracasso RP, et al. Processing of Alzheimer f3/A4 amyloid precursor protein: modulation by agents that regulate protein phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:6003-6006.
189. Furukawa K, Barger SW, Blalock EM, Mattson MP. Activation of  $K^{+}$  channels and suppression of neuronal activity by secreted f3-amyloid precursor protein. *Nature* 1996;379:74-78.
190. Summer WK, Majoussi LV, Marsh GM, Tachiki K, Kling A. Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type. *N Engl J Med* 1986;315:1241-1245.
191. Mondadori C. In search of the mechanism of action of the No tropics: new insights and potential clinical implications. *Life Sci* 1994;55:2171-2178.
192. Mayeux R, Sano M. Treatment of Alzheimer's disease. *New Engl J Med* 1999;340:1670-1677.
193. Emilien G, Beyereuther K, Masters C, Maloteaux J-M. Prospects for pharmacological intervention in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2000;57:454-459.
194. Grutzendler J, Morris JC. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Drugs* 2001;61:41-52.
195. Jann MW, Shirley KL, Small GW. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:719-739.
196. Cross AJ, Crow TJ, Ferrier IN, Johnson JA, Bloom SR, Corsellis JAN. Serotonin receptor changes in dementia of the Alzheimer's type. *J Neurochem* 1984;43:1574-1581.
197. Francis PT. Glutamatergic systems in Alzheimer's disease. *Int J Ger Psych* 2003;18:S15-S21.
198. Bleich S, Romer K, Wiltfang J, Kornhuber J. Glutamate and the glutamate receptor system: a target for drug action. *Int J Ger Psych* 2003;18:S33-S40.
199. Butterfield DA, Pocernich CB. The glutamatergic system and Alzheimer's disease: therapeutic implications. *CNS Drugs* 2003;17:641-652.
200. Jansen KLR, Faull RLM, Orgunow M, Synek BL. Alzheimer's disease: changes in hippocampal N-methyl-D-aspartate, quisqualate, neurotensin, adenosine, benzodiazepine, serotonin and opioid receptors -An autoradiographic study. *Neurosci* 1990;39:613-627.
201. Oewar O, Chalmers OT, Graham DI, McGullock J. Glutamate metabotropic and AMPA binding sites are reduced in Alzheimer's disease: an autoradiographic study of the hippocampus. *Brain Res* 1991;553:58-64.
202. Francis P, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psych* 1999;66:137-147.
203. Ohno M, Frankland PW, Chen AP, Costa RM, Silva AJ. Inducible pharmacogenetic approaches to the study of learning and memory. *Nat Neurosci* 2001;4:1238-1243.
204. McGaugh JL, Izquierdo I. The contribution of pharmacology to research on the mechanisms of memory formation. *TIPS* 2000;21:208-210.
205. Buccafusco JJ, Terry AV Jr. Multiple central nervous system targets for eliciting beneficial effects on memory and cognition. *Perspect Pharmacol* 2000;29:438-446.
206. Hsu K-S, Huang Ch-Ch, Liang Ych, Wu H-M, Chen Y-L, Lo S-W, Ho W-Ch. Alterations in the balance of protein kinase and phosphatase activities and age-related impairments of synaptic transmission and long-term potentiation. *Hippocampus* 2002;12:787-802.
207. Siedenman KJ, Steinberg JP, Huganir R, Malinow R. Glutamate receptor subunit 2 serine 880 phosphorylation modulates synaptic transmission and mediates plasticity in CA1 pyramidal cells. *J Neurosci* 2003;23:9220-2003.