



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultat de Ciències

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

# Relación entre ritmos circadianos y plasticidad neuronal

Soraya Alonso de Caso Vera

**Grau de Biologia**

Any acadèmic 2017-18

Treball tutelat per Antoni Miralles

Departament de Biologia

S'autoriza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Plasticidad sináptica, Ritmos circadianos, Memoria, Hipocampo, LTP, estructura sináptica, neurogénesis, reloj celular, corticosterona, melatonina.



# Índice

Resumen.....	4
Introducción .....	5
Material y métodos .....	6
Reloj biológico y celular.....	8
Regulación circadiana de la potenciación a largo plazo.....	9
Mecanismo general de la LTP.....	9
Relación de LTP con ritmos circadianos .....	11
Regulación de LTP por el reloj celular .....	11
Regulación de LTP por glucocorticoides.....	13
Regulación de LTP por melatonina.....	14
Regulación circadiana de la estructura sináptica.....	16
Mecanismo general de los cambios y formación de espinas dendríticas .....	16
Regulación de la estructura sináptica por glucocorticoides.....	18
Regulación de la estructura sináptica por melatonina.....	20
Regulación circadiana de la neurogénesis adulta .....	21
Mecanismo de la neurogénesis adulta.....	21
Relación de la neurogénesis adulta con el reloj celular .....	23
Relación de los glucocorticoides con la neurogénesis adulta .....	24
Relación de la melatonina con la neurogénesis adulta .....	25
Discusión .....	26
Conclusión .....	29
Bibliografía.....	29

## **Resumen**

La plasticidad sináptica se describe como la capacidad del sistema nervioso para modificar sus conexiones mediante cambios en la eficacia, forma y número de sus sinapsis. Esta característica tiene un importante papel en la formación de memoria y aprendizaje, procesos que están altamente relacionados con el hipocampo. En varios estudios se ha demostrado que los mecanismos de plasticidad sináptica pueden ser modulados por el sistema circadiano, a través de diversos factores como los relojes celulares o la liberación de hormonas, controlada por el reloj central situado en el núcleo supraquiasmático. En esta revisión, se han analizado los efectos y mecanismos mediante los cuales, tanto los componentes del reloj celular, como las hormonas melatonina y corticosterona, toman parte en la regulación de la plasticidad sináptica del hipocampo. Como resultado, se puede observar que tanto el reloj celular como las hormonas actúan sobre la LTP, los cambios en la estructura sináptica y las diferentes fases de la neurogénesis, de manera que parecen optimizar el proceso de formación de memoria en los momentos adecuados del día. Sin embargo, aún todos los estudios realizados que demuestran la importancia del control circadiano sobre la plasticidad y la memoria, todavía se sabe poco sobre esto, por lo que será conveniente seguir investigando al respecto.

## ***Abstract***

Synaptic plasticity is described as the ability of the nervous system to modify their connections through changes in efficiency, shape and number of their synapses. This feature has an important role in the formation of memory and learning, processes that are highly related to the hippocampus. Several studies have shown that synaptic plasticity mechanisms can be modulated by the circadian system, through various factors such as the molecular clocks or the release of hormones, controlled by the master clock in the suprachiasmatic nucleus. In this review, we have analyzed the effects and mechanisms by which both the components of the cell clock, and the hormones melatonin and corticosterone, take part in the regulation of the synaptic plasticity of the hippocampus. As a result, it can be observed that both the cellular clock and the hormones act on the LTP, the changes in the synaptic structure and the different phases of neurogenesis, so that they seem to optimize the process of memory formation at the appropriate moments of the day. Nevertheless, even all the studies that demonstrate the importance of circadian control of plasticity and memory, little is known about this yet, so it will be convenient to further research in this regard.

## Introducción

La plasticidad sináptica ha sido ampliamente estudiada durante años debido a su importante papel para la memoria y el aprendizaje, esenciales para la adaptación al medio. Ésta se describe como la capacidad del sistema nervioso para modificar la fuerza, el número y la forma de sus conexiones neuronales ante ciertos estímulos (Frank, 2016). Esta capacidad existe en diferentes regiones del cerebro, incluido el hipocampo, que es una estructura formada por dos partes simétricas (una en cada hemisferio), incluida en el sistema límbico, relacionada con el aprendizaje y la memoria espacial (Burgess, Maguire and O'Keefe, 2002). Por una parte, las conexiones sinápticas dentro del hipocampo se someten a cambios dependientes de la actividad en la fuerza sináptica, incluyendo como principal mecanismo la potenciación a largo plazo (LTP), que consiste en un incremento duradero de la transmisión sináptica debido a un estímulo intenso prolongado. Por otra parte, las conexiones sinápticas pueden sufrir cambios estructurales que acompañan a los anteriores, como los cambios morfológicos que tienen lugar al destruirse y crearse nuevas conexiones sinápticas (Lamprecht and Ledoux, 2004; Kandel, Dudai and Mayford, 2014). Además, la neurogénesis, el proceso por el cual se forman nuevas neuronas, también es esencial, ya que ésta implica el desarrollo e integración sináptica funcional de nuevas neuronas en los circuitos conductuales, y puede tomar parte en la modificación estructural de las conexiones (Leuner and Gould, 2010; Alam *et al.*, 2017). Todos estos procesos en conjunto permiten el almacenamiento de memoria en las conexiones del cerebro.

En los últimos años, varios estudios han demostrado que los diferentes mecanismos de plasticidad sináptica presentan ritmos endógenos circadianos debido a que están mediados por diferentes rutas de señalización que son reguladas por cascadas celulares, genes reloj y moléculas como hormonas y neuropéptidos, cuya expresión o liberación se da con una frecuencia circadiana (Smarr *et al.*, 2014; Frank, 2016; Rawashdeh, Parsons and Maronde, 2018). Estos ritmos son oscilaciones con periodo cercano a un día que controlan las funciones fisiológicas del organismo otorgándoles organización temporal. En mamíferos este ritmo endógeno se genera mediante bucles de transcripción autorregulados con un ciclo de 24 horas de los denominados genes reloj, y está controlado por el reloj central, situado en el núcleo supraquiasmático (NSC), formado por alrededor de 10.000 neuronas que conectan mediante sinapsis y señales hormonales con los osciladores periféricos, de forma que comunica la información temporal obtenida del exterior para mantener una coordinación entre todos (Snider, Sullivan and Obrietan, 2018). De todos estos estudios que relacionan la capacidad plasticidad sináptica y la formación de memoria con los ritmos circadianos, se saca la conclusión de que el mantenimiento de la ritmicidad es crucial para el correcto almacenamiento de la información en la memoria de forma ordenada y con un contexto temporal.

Ya que, tanto los procesos de memoria y aprendizaje como el reloj biológico que controla el sistema circadiano tienen un rol importante en la adaptación al medio del organismo, esencial para su supervivencia, en esta revisión se va a investigar la relación entre ambos para estudiar cómo afectan los ritmos circadianos a la plasticidad neuronal característica de los procesos de formación de memoria. De este modo, el objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de una selección de factores cuyo ritmo circadiano afecta a los diferentes procesos involucrados en la plasticidad neuronal, así como los mecanismos mediante los cuales la regulan. Estos factores son: los genes reloj que componen el reloj celular; la hormona melatonina, segregada por la glándula pineal; y las hormonas glucocorticoides, en concreto la corticosterona (CORT), segregada por las glándulas adrenales. El estudio se centrará, principalmente, en el hipocampo, ya que es la región más estudiada que se asocia con la capacidad de aprendizaje y memoria en los vertebrados; y en los mamíferos roedores, cuya fase activa es durante la noche, debido a que son el organismo modelo sobre el que más estudios se han hecho sobre este tema.

## **Material y métodos**

Para la realización de esta revisión bibliográfica se han utilizado principalmente la página Web of Science (WOS) y PubMed (NCBI) que son plataformas que recogen una gran variedad de publicaciones científicas de diferentes áreas de conocimiento. En primer lugar, se buscó información con las palabras clave “Circadian rhythms” y “Synaptic plasticity” para obtener una idea del general del tema y decidir hacia donde encaminar la investigación bibliográfica. Tras hacer un estudio de reviews y artículos donde se recogían varios de los mecanismos que presentan una ritmicidad circadiana y que regulan los procesos de plasticidad sináptica se escogieron tres para realizar revisión: los genes reloj y las hormonas melatonina y glucocorticoides, principalmente, corticosterona (CORT). Para la búsqueda de información sobre los efectos de estas moléculas se utilizaron las palabras clave “Circadian”, “Synaptic plasticity”, “neurogenesis”, “LTP”, “structural plasticity” y “dendritic spine” combinada con “melatonin”, “glucocorticoids” o “CORT” y “clock genes”

Por último, se ha realizado un estudio de las tendencias de estos temas desde que empezaron a publicarse en la plataforma PubMed hasta la actualidad para ver cómo ha ido creciendo su importancia e interés científico. En el primer gráfico, se hace una comparativa del número de publicaciones que se han hecho hasta ahora con cada uno de los temas, es decir, el número de publicaciones sobre ritmos circadianos, el número de publicaciones sobre plasticidad sináptica, y el de ambos. En este gráfico se observa una tendencia general de crecimiento en el tiempo hasta la actualidad, pero que varía entre los diferentes temas. El tema con mayor número de publicaciones es

el de los ritmos circadianos, y su crecimiento comienza a partir de los años 60, a partir de los primeros descubrimientos sobre los componentes del sistema circadiano (Aschoff, 1960). Por otro lado, número de publicaciones sobre plasticidad sináptica comienza a ascender en los años 90, cuando se empiezan a revelar los principales mecanismos de plasticidad sináptica, como la LTP, y su funcionamiento (Bashir and Collingridge, 1992). Y por último el número de publicaciones que relacionan ambos temas se queda muy atrás en comparación a los otros y que, aunque también se ve incrementado en los últimos años, ha sido un tema poco estudiado en comparación a los otros dos (Figura 1A). Por otro lado, en el segundo gráfico se muestra solo la tendencia del número de publicaciones que relacionan ambos temas, de manera que se puede observar mejor el incremento en el tiempo, sobre todo a partir del año 2000. Con esto, se puede ver que la relación entre los ritmos circadianos y la plasticidad sináptica es un tema que ha ido convirtiéndose en un tema de interés a medida que se han ido avanzado en las investigaciones (Figura 1B)

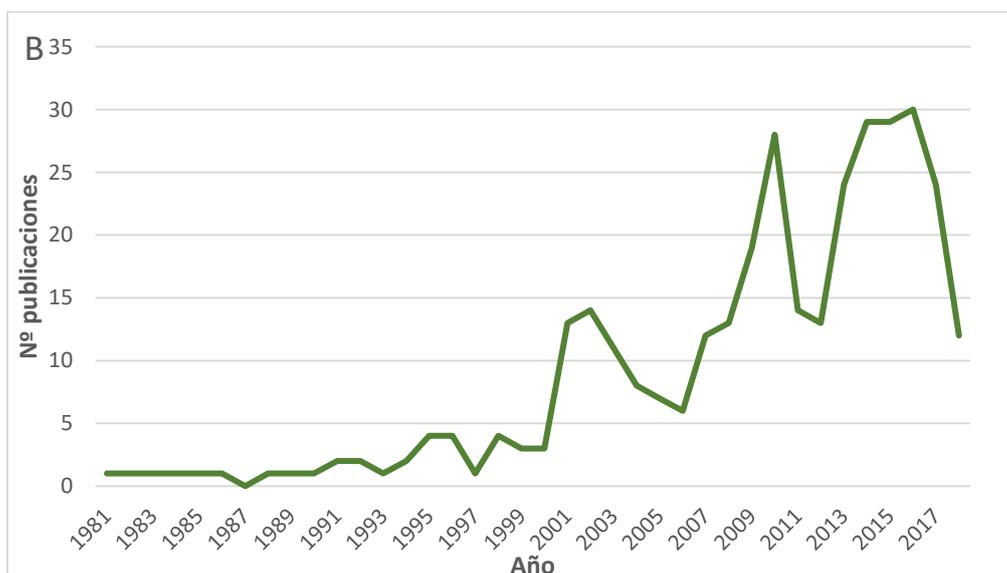
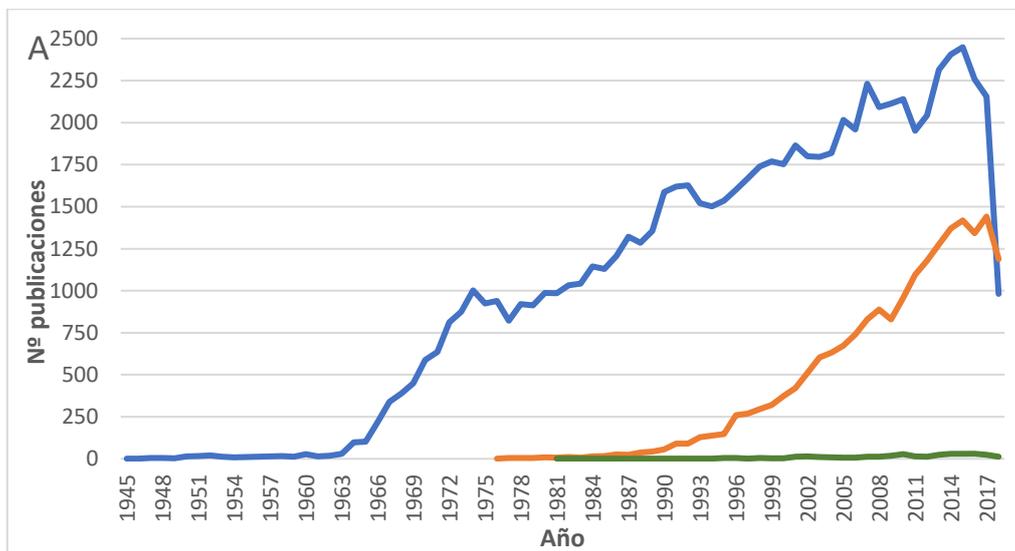


Figura 1. A) Gráfico de la tendencia del número de publicaciones en la plataforma PubMed a lo largo de los años hasta la actualidad. La línea azul representa las publicaciones encontradas con las palabras clave “Circadian rhythms”, la línea roja representa las publicaciones encontradas con las palabras clave “Synaptic plasticity” y la línea verde representa las publicaciones encontradas con ambas, “Circadian rhythms” y “Synaptic plasticity”. B) Gráfico de la tendencia del número de publicaciones con las palabras clave “Circadian rhythms” y “Synaptic plasticity” en la plataforma PubMed a lo largo de los años hasta la actualidad.

## Reloj biológico y celular

En los mamíferos el sistema que controla los ritmos circadianos en el organismo está compuesto por un conjunto de osciladores periféricos que son controlados por el reloj central, formado por un gran conjunto de neuronas, situado en el núcleo supraquiasmático (NSC). Éste se sincroniza con el ciclo de luz-oscuridad y mantiene la coordinación de los relojes celulares de los osciladores independientes. El ritmo circadiano se origina gracias al mecanismo molecular de estos relojes, que consiste en una red de bucles transcripcionales-translacionales autorregulados mediante retroalimentación que forman patrones de expresión de los componentes del reloj con un ciclo que tarda 24 horas en completarse, y es similar tanto en las células del reloj central como en la de los periféricos (Ko and Takahashi, 2006; Snider, Sullivan and Obrietan, 2018)

El bucle principal consta cuando los factores de transcripción CLOCK y BMAL1 forman un complejo por heterodimerización, el cual se une a la E-box de los promotores de otros genes, entre ellos *Period* (Per 1, 2 y 3) y *Cryptochrome* (Cry 1 y 2), iniciando su transcripción (ésta se inicia al principio de la mañana). Así se forman los productos de PER y CRY, que más tarde formarán heterodímeros en el citoplasma, y serán fosforilados por CK1 y translocados al núcleo de nuevo, inhibiendo su propia transcripción, mediante la inhibición del complejo CLOCK:BMAL1 (hacia el principio de la noche). Así, la expresión máxima de *Bmal1* se da durante la noche, mientras que el de *Per* y *Cry* se da durante el día. Otro bucle que participa en la regulación del reloj es también inducido por CLOCK:BMAL1, que activa la transcripción de los receptores nucleares huérfanos *Rev-erb* y *Ror*, que se unirán al elemento de respuesta de receptores huérfanos relacionados con ácido retinoico. Éstos se encuentran en la zona promotor del gen *Bmal1*, y regulan su transcripción de manera que ROR la activa y REV-ERB la reprime. Por último, cabe destacar los procesos de modificaciones post-traslacionales como la ubiquitinación y fosforilación de los productos que forman estos bucles, ya que realizan una importante contribución a la precisión del reloj. Por ejemplo, la caseína quinasa 1 (CK1), que fosforilan PER para su posterior degradación, reduciendo la formación del complejo inhibitor PER:CRY (Figura 2) (Ko and Takahashi, 2006; Hernández-Rosas and Santiago-García, 2010).

Este sistema circadiano puede afectar a la plasticidad sináptica de diferentes maneras, por ejemplo, mediante el control de la liberación de neuromoduladores y hormonas por parte del reloj central o mediante la modulación de las cascadas celulares por parte del ciclo de genes en los relojes celulares periféricos (Frank, 2016). En este sentido, el hipocampo funciona como un integrador de la información circadiana mediante entradas desde el NSC y otros osciladores, además de los ciclos genéticos de los relojes celulares que se encuentran en éste, ya que se ha observado que las neuronas del hipocampo expresan los genes reloj con un ritmo circadiano. (Smarr *et al.*, 2014)

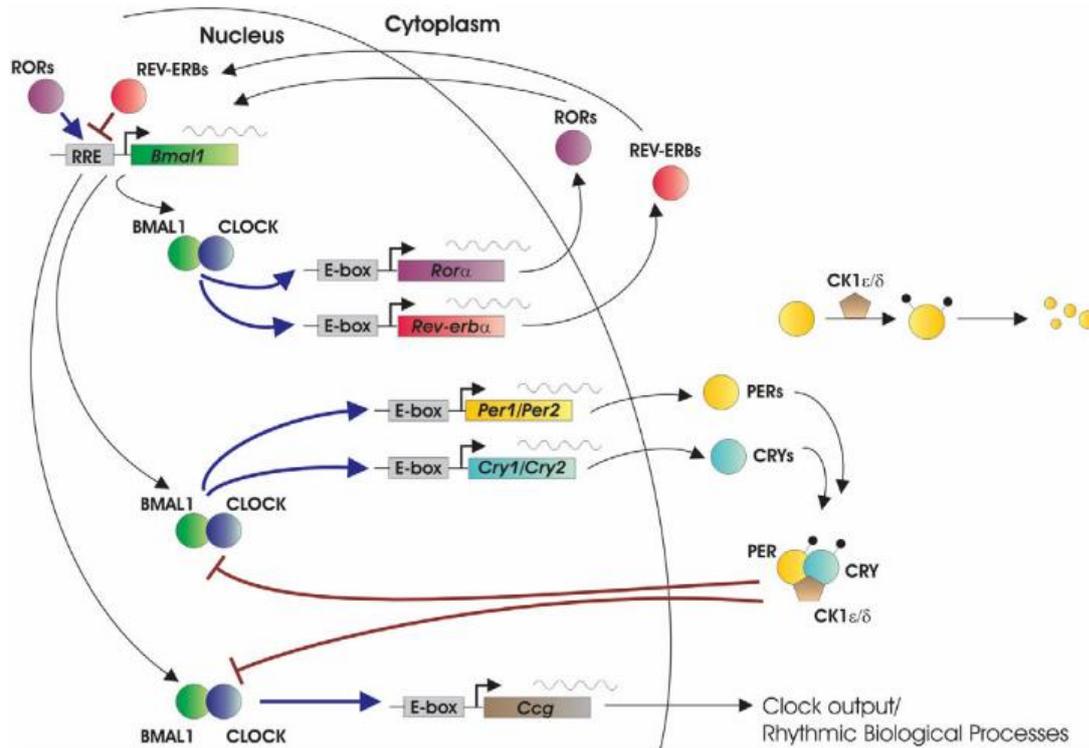


Figura 2. Esquema de los bucles de retroalimentación de transcripción-traducción que forman parte del reloj celular del sistema circadiano en mamíferos (Ko and Takahashi, 2006).

## Regulación circadiana de la potenciación a largo plazo

### ***Mecanismo general de la LTP***

La potenciación a largo plazo (LTP) en el hipocampo es un mecanismo muy estudiado relacionado con la capacidad de aprendizaje y memoria, debido a que mediante ésta se modifica la eficacia sináptica entre neuronas. Mediante la modulación de la LTP se puede regular la plasticidad neuronal en el hipocampo, por tanto, los factores relacionados con el ritmo circadiano que puedan influir en el mecanismo molecular de la LTP también podrán controlar los ritmos circadianos de ésta. El mecanismo molecular que subyace al funcionamiento de este proceso conocido como potenciación a

largo plazo en el hipocampo incluye la activación de cascadas de señalización y la expresión de genes para su mantenimiento. Es importante comentar que existen diferentes tipos de LTP dependiendo del lugar y los receptores y rutas de señalización que toman parte de ésta. En este caso se explicará el mecanismo de la LTP hipocampal dependiente de receptores NMDA que tiene lugar entre las neuronas colaterales de Schaffer de la región CA3 a la CA1, ya que es sobre la que se tiene más información y la más estudiada.

La potenciación a largo plazo se puede dividir en dos fases, temprana y tardía, que coinciden con la inducción y el mantenimiento de la LTP. En la primera fase se activan principalmente receptores y cascadas de señalización mediante la actividad de diferentes quinasas y segundos mensajeros, mientras que en la segunda se lleva a cabo la expresión de genes y síntesis de proteínas que darán lugar al potenciamiento de la fuerza sináptica entre conexiones y los cambios estructurales en las espinas dendríticas donde se dan estas conexiones (Sweatt, 1999; Lu and Malenka, 2012).

La fase temprana (E-LTP) comienza tras un estímulo de alta frecuencia (100 Hz) en la zona presináptica que provoca la liberación de neurotransmisor glutamato desde la región presináptica que se une en la zona post-sináptica a los receptores NMDA y AMPA. Al unirse a los receptores AMPA comienza el flujo de  $\text{Na}^+$  hacia el interior y  $\text{K}^+$  hacia el exterior, provocando la despolarización que permite la liberación de los receptores NMDA del  $\text{Mg}^{2+}$  que bloquea el canal. Tras esto, se produce una gran entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  que activa la calmodulina y con ello se activan diferentes quinasas, la dependiente de calcio/calmodulina II (CaMKII) y la proteína quinasa PKC, que fosforilan receptores AMPA aumentando su sensibilidad al glutamato y con ello el mantenimiento de la despolarización y la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  por los receptores NMDA, de manera que se prolonga la LTP (Miyamoto, 2006). Por otro lado, se activa la Adenilato Ciclasa (AC) que forma AMPc induciendo una cascada de señalización, llevando a la activación de la proteína quinasa A (PKA) la cual actúa sobre diferentes sustratos, como canales iónicos dependientes de voltaje, receptores AMPA y factores de transcripción como CREB (Sweatt, 1999). Además, otras quinasas son activadas para llevar a cabo la fosforilación de sustratos de la fase tardía junto a la PKA, entre la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK/ERK), la cual puede ser activada por la PKA o la PKC (Roberson *et al.*, 1999). Durante la fase tardía se lleva a cabo la expresión de genes que dará la síntesis de proteínas relacionadas con la modificación de la fuerza y estructura de circuitos sinápticos. En esta fase se da la fosforilación, por parte de la PKA y MAPK/ERK, del factor de transcripción CREB, que es fosforilado y translocado al núcleo donde se une a los elementos de respuesta de cAMP (CRE) para la activación de la expresión génica y síntesis proteica (Figura 3) (Lu and Malenka, 2012).

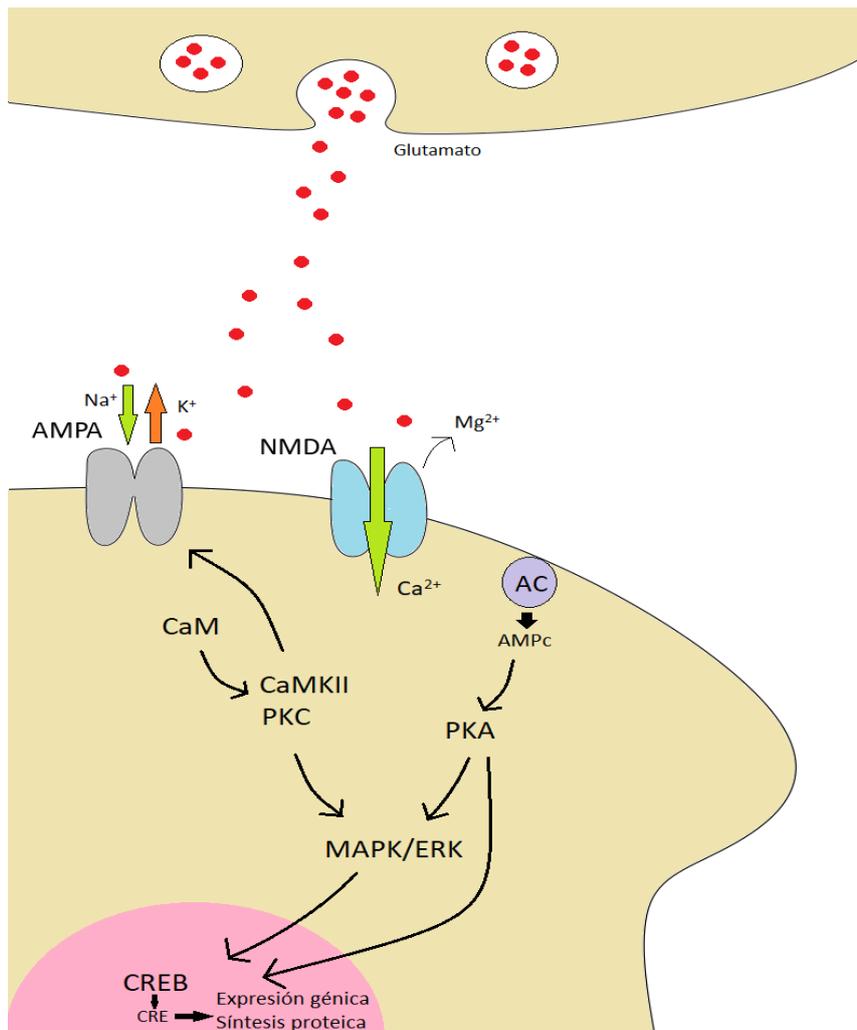


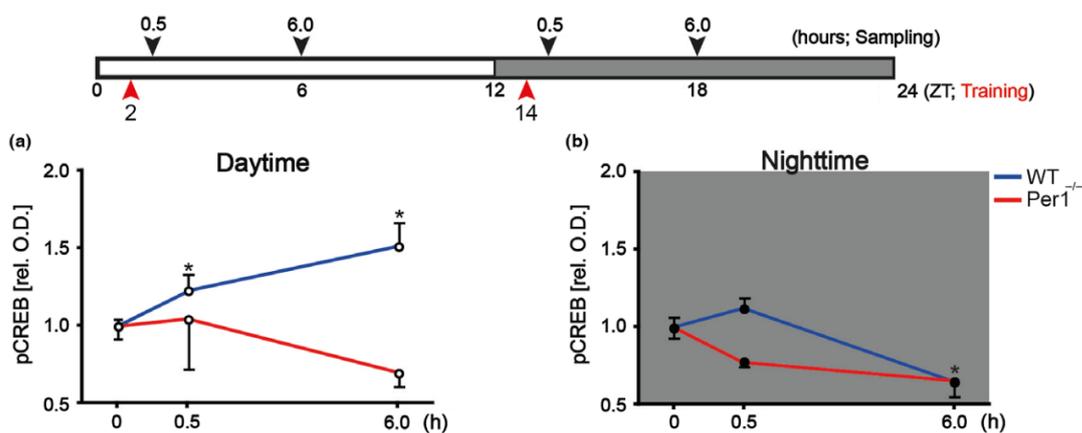
Figura 3. Esquema del mecanismo general de inducción y mantenimiento de la LTP hipocámpal entre las neuronas CA3 y CA1.

### Relación de LTP con ritmos circadianos

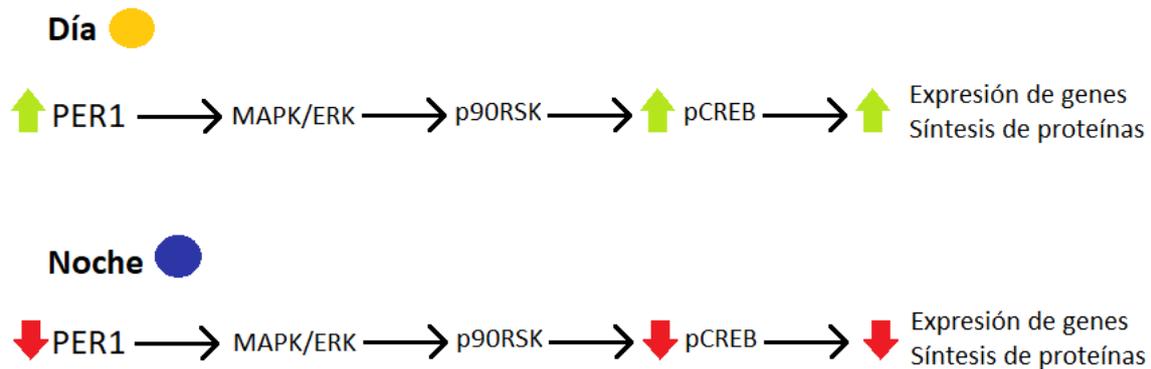
#### Regulación de LTP por el reloj celular

Los mecanismos celulares y moleculares relacionados con la memoria a largo plazo están moldeados por el tiempo diario. Se ha podido observar que todos los componentes principales del reloj celular se expresan rítmicamente en las células del hipocampo, funcionando como osciladores independientes del SCN, aunque sincronizados por éste para mantener la coordinación (Rawashdeh, Parsons and Maronde, 2018). Además, el reloj celular y la LTP comparten rutas de señalización como la cAMP/CREB y la MAPK/ERK, por lo que es posible que exista una modulación de la memoria a largo plazo por parte de los mecanismos que regulan el reloj celular mediante la reactivación circadiana de éstas. (Smarr *et al.*, 2014) Debido a esto, se ha sugerido que algunos de los componentes principales del reloj celular tienen un papel regulador en la plasticidad sináptica.

PERIOD1 es un componente del reloj celular que tiene influencia sobre la LTP. La magnitud de LTP se ve reducida en ratones knockout para *Per1*, aunque no se ven afectadas las propiedades básicas de transmisión sináptica, la plasticidad a corto plazo y excitabilidad de la red neuronal. (Rawashdeh *et al.*, 2014) Esto hace pensar que PERIOD 1 regula la LTP en el hipocampo regulando alguno de los factores que llevan a la expresión génica, por ejemplo, el factor de transcripción CREB, en la fase tardía de la LTP. Tras un estudio en ratones, se llega a la conclusión de que la fosforilación de CREB en el hipocampo es dependiente de PER1, ya que muestran un análisis de la concentración de CREB fosforilado (pCREB) durante el día y la noche para ratones de genotipo salvaje (WT) y knockout para *Per1* (*Per1*<sup>-/-</sup>) donde la densidad óptica de pCREB en ratones WT varía incrementando por el día y disminuyendo por la noche, mientras que en los ratones *Per1*<sup>-/-</sup> disminuye tanto por el día como por la noche (Figura 4). La fosforilación de CREB es rítmica gracias a PER1, de manera que la síntesis de proteínas también sigue un ritmo circadiano. PER1 induce la fosforilación de CREB incrementando la señalización que se origina debido a la activación de MAPK/ERK, pero no afecta a la activación de ésta, sino que afecta a la activación de otras quinasas que activan esa ruta, como p90RSK. (Rawashdeh *et al.*, 2016). Por tanto, se puede deducir que, durante el día, cuando hay un aumento en la expresión de PER1, éste pone en marcha la ruta de MAPK/ERK, que activa la quinasa p90RSK, la cual es trasladada al núcleo donde activará el factor CREB mediante fosforilación y tendrá lugar la expresión de genes; de esta manera, la síntesis de proteínas asociada a la segunda fase de la LTP se verá aumentada durante la fase inactiva, mientras que más baja durante la fase activa, por la noche. (Figura 5).



**Figura 4. Concentración de CREB fosforilado durante el día y la noche en ratones con genotipo salvaje (WT) y knockout para *Period1* (*Per1*<sup>-/-</sup>). (Rawashdeh, Jilg, Maronde, Fahrenkrug, & Stehle, 2016)**

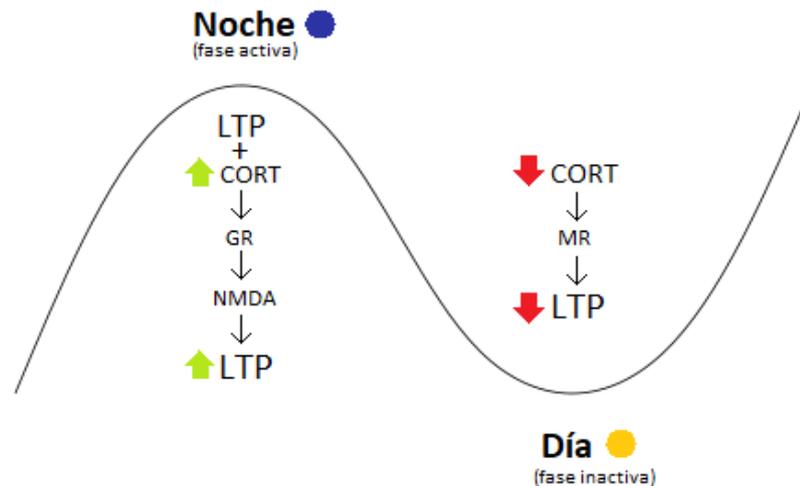


**Figura 5. Esquema del mecanismo de acción y los efectos de PER2 sobre la LTP durante el ciclo circadiano.**

### *Regulación de LTP por glucocorticoides*

El SCN controla la liberación circadiana de diferentes hormonas en el organismo, incluida la corticosterona (CORT), la cual es liberada por las glándulas adrenales. La concentración en plasma de corticosterona oscila de manera circadiana, siendo máxima al inicio de la fase oscura y mínima en la mañana tras empezar la fase de luz. Este ritmo es conducido por entradas del SCN al núcleo paraventricular, que regula la liberación ejerciendo un control sobre las glándulas adrenales (Albrecht and Stork, 2017). Además de las oscilaciones normales, la corticosterona es liberada en situaciones de estrés causando efectos sobre la actividad sináptica en el hipocampo y otras zonas del cerebro. La regulación de corticosterona sobre el hipocampo viene dada por dos tipos de receptores, receptor de mineralocorticoides (MR) y receptor de glucocorticoides (GR). Normalmente los receptores MR están activados debido a su alta afinidad con la corticosterona, en comparación con los GR que tienen una afinidad más baja; por tanto, en condiciones normales la activación de estos receptores irá variando de una mayoría de MR a ambos activados al haber picos de corticosterona en el organismo. Generalmente, la LTP se ve afectada por la concentración de corticosterona en una función de U invertida; la inducción de LTP se da con niveles bajos o moderados de corticosterona y resulta inhibida cuando no hay o cuando los niveles son muy altos. Los receptores GR pueden bloquear la inducción de LTP mediante la depresión de los receptores NMDA cuando la concentración de corticosterona aumenta demasiado, por ejemplo, en situaciones de estrés (Maggio & Segal, 2010). Sin embargo, también se ha comprobado que un aumento de la concentración de corticosterona coincidiendo justo tras la inducción de la LTP, puede provocar un aumento de esta mediante la actuación de GR sobre NMDA (Joëls, Krugers and Karst, 2007; Tse, Bagot and Wong, 2012). De esto se puede deducir que un posible mecanismo para la modulación de la LTP mediante corticosterona es mediante la reducción o aumento de la inducción de la LTP en función de las

oscilaciones de corticosterona. Como se ha comentado previamente, los picos de CORT son durante la fase oscura, que es la activa para los animales roedores, con lo que al aumentar la concentración de ésta por la noche y coincidir con la inducción de la LTP debido a un potente estímulo, se activará GR dando lugar a un aumento en la LTP. Por otro lado, durante el día, es decir la fase inactiva, los niveles de la hormona estarían reducidos y solo los MR se verán activado, por ello la inducción de LTP será normal o reducida. (Figura 6)



**Figura 6. Esquema sobre el mecanismo de acción y los efectos de la corticosterona sobre la LTP durante un ciclo circadiano.**

### *Regulación de LTP por melatonina*

La melatonina es una hormona liberada por la glándula pineal que tiene varias funciones en el organismo y se caracteriza porque sus niveles varían de forma circadiana, bajo el control del núcleo supraquiasmático, que da máximos durante la noche y mínimos durante el día. En los últimos estudios sobre la melatonina, se ha observado que ésta tiene un efecto inhibitorio sobre la LTP. Además, este efecto es dependiente de la concentración y del tiempo de exposición, según el estudio realizado por *Wang et al.* en 2005, cuyos resultados mostraban un efecto inhibitorio significativo en presencia de melatonina a partir de un mínimo de concentración (100 nM), a partir del cual se puede observar una disminución del potencial excitatorio postsináptico y la magnitud de la LTP que se exagera al aumentar la concentración y el tiempo de exposición (Figura 7). En este mismo estudio se comprueban qué mecanismos llevan a cabo este efecto inhibitorio sobre la LTP por parte de la melatonina mediante varios experimentos con ratones. El mecanismo por el cual se sugiere que puede darse el efecto inhibitorio de la melatonina sobre la LTP es a través de los receptores de melatonina que se expresan en varios lugares del cerebro, incluyendo el hipocampo y el núcleo

supraquiasmático donde se encuentra el reloj central. Éstos son receptores acoplados a proteínas G que pueden modular los mecanismos de acción que dan lugar a la LTP. Hay 2 tipos de receptores, MT1 y MT2, los cuales regulan varias rutas de señalización, aunque se les conoce principalmente porque están asociados negativamente con la adenilato ciclasa, de forma que su activación inhibe la formación de AMPc por la AC (Dubocovich and Markowska, 2005). De este modo, en el estudio de Wang et al. 2005 se llega a la conclusión de que el mecanismo de acción de la melatonina sobre la LTP entre SC-CA1 es a través de los receptores MT2, ya que el efecto de la melatonina solo se ve bloqueado en ratones que son *knockout* para MT2 y no para MT1, y que al activarse inhiben la formación de AMPc por la adenilato ciclasa, comprometiendo la activación de rutas de señalización como la de la PKA y, por tanto, reduciendo la magnitud de la LTP (Figura 8). Este efecto inhibitorio sucedería en la fase oscura, que es cuando se libera melatonina en mayor cantidad, es decir, durante la fase activa del roedor.

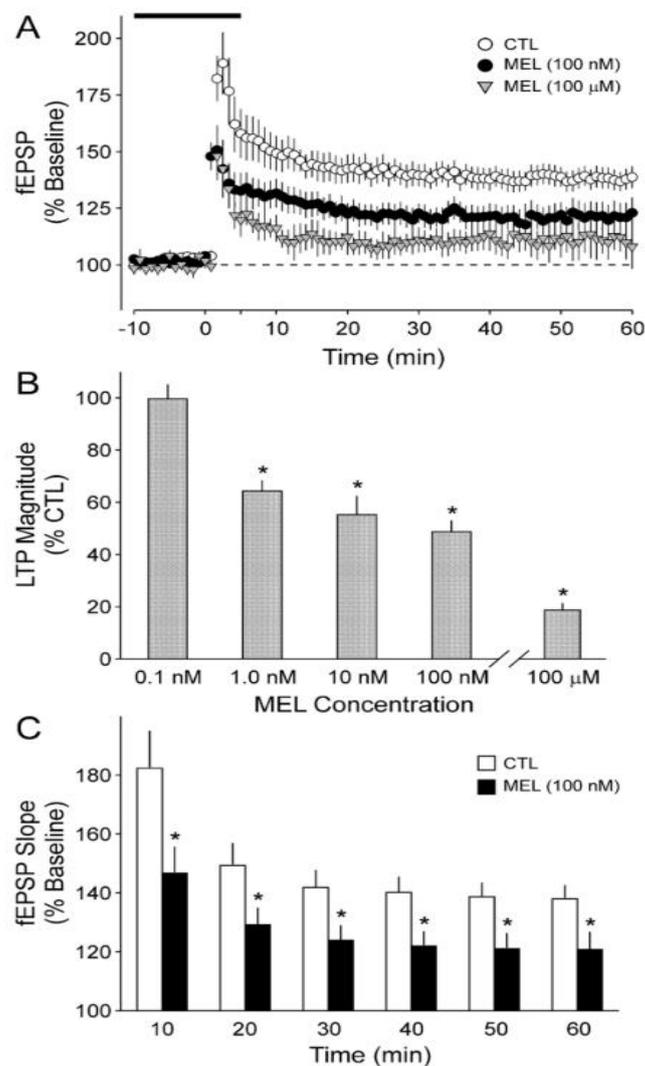


Figura 7. Gráfica del efecto inhibitorio de MEL sobre LTP dependiente de concentración y tiempo de exposición (Wang et al., 2005).

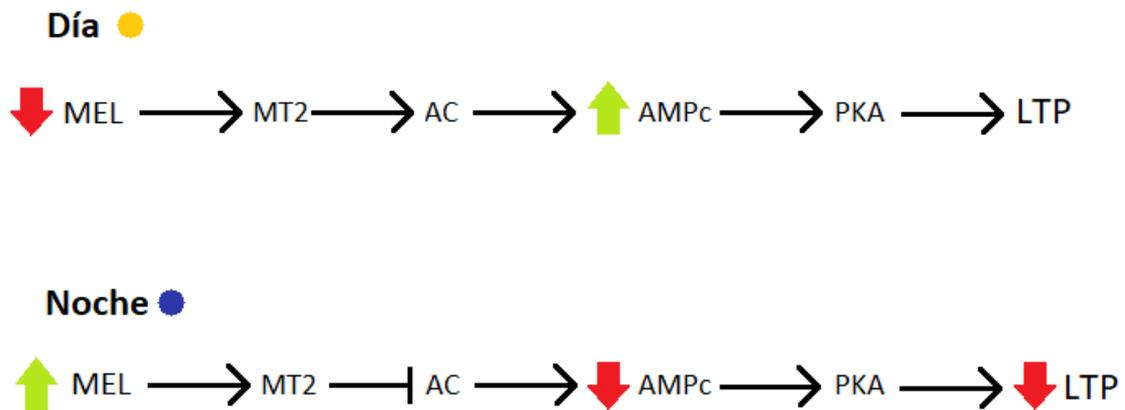


Figura 8. Esquema del mecanismo de acción y efectos de la melatonina sobre la LTP durante el ciclo circadiano.

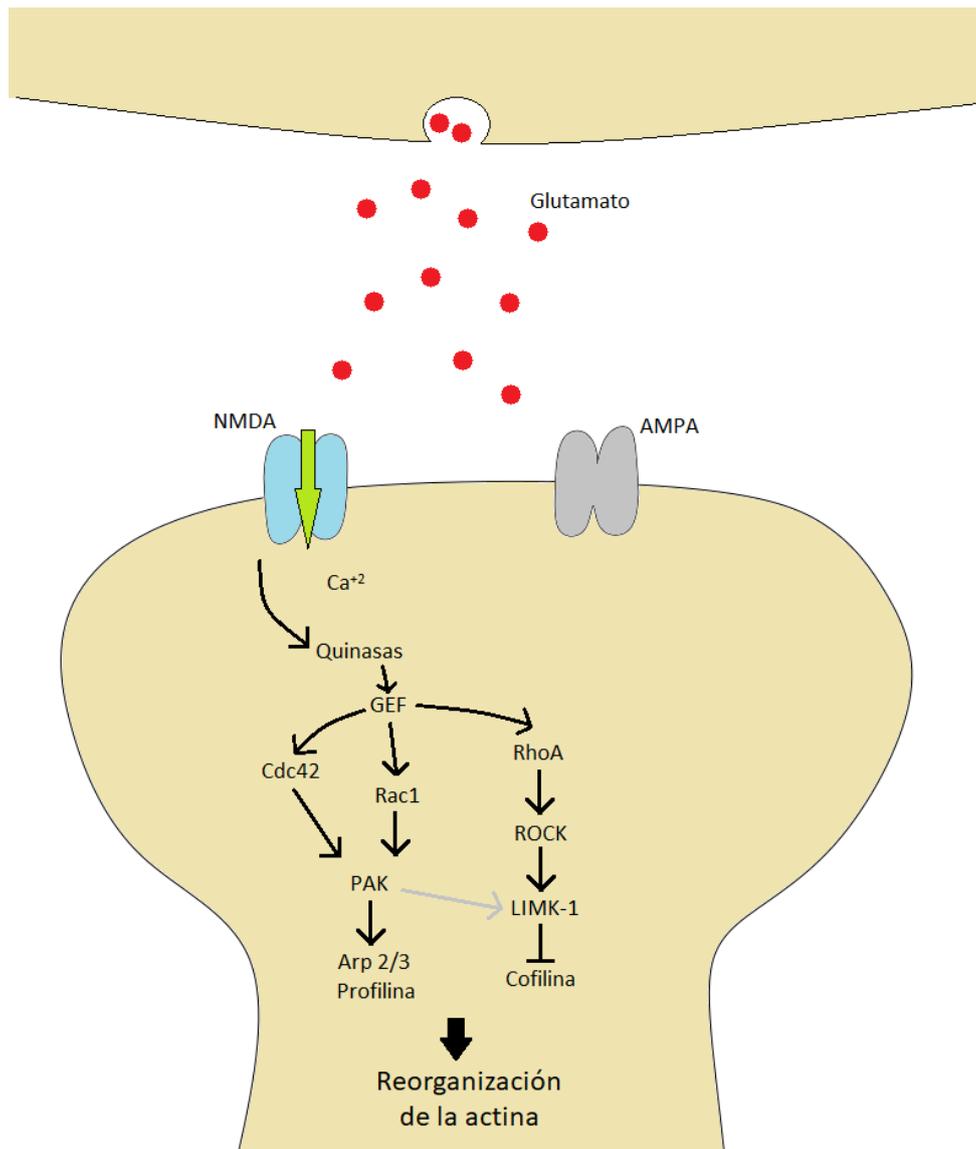
## Regulación circadiana de la estructura sináptica

### *Mecanismo general de los cambios y formación de espinas dendríticas*

Entre los cambios estructurales que ocurren con relación a la plasticidad sináptica, se encuentran los cambios morfológicos en las conexiones sinápticas. La mayoría de las sinapsis tienen lugar en unas protuberancias conocidas como espinas dendríticas, las cuales contienen una estructura en forma de disco llamada densidad postsináptica (PSD). Éstas estructuras están compuestas por múltiples dominios proteicos como receptores de neurotransmisores, canales iónicos, moléculas de transducción de señales y componentes del citoesqueleto. Las espinas dendríticas están formadas por una cabeza y un cuello que las une a la dendrita, de manera que funcionan como compartimentos que confinan la señalización durante la sinapsis y permiten aumentar la velocidad en los cambios de concentración y en el proceso en general. (Lamprecht and Ledoux, 2004; Bosch and Hayashi, 2015). Los cambios morfológicos en las espinas dendríticas pueden ser en forma, tamaño o número, pero cada uno de ellos sucede en escalas de tiempo diferentes, siendo el aumento/disminución de espinas el más lento, ya que requiere la formación o eliminación de las estructuras, y los cambios en la forma los más rápidos (Fischer et al., 1998; Lamprecht & Ledoux, 2004).

Varios estudios confirman que el citoesqueleto de las espinas dendríticas está principalmente formado por filamentos de actina y que, debido a esto, los cambios morfológicos que suceden en éstas están mediados por un mecanismo dependiente de la actina. Por tanto, para que se den estas modificaciones, debe haber una movilización de la actina que forma el citoesqueleto que está asociado a la membrana y a la PSD, y esto se da gracias a los bucles de polimerización y

despolimerización de esta proteína. Además, estos estudios sostienen que los cambios morfológicos suceden tras episodios de estimulación en las conexiones como sucede con la LTP, pudiendo llegar a modificarse a largo plazo. (Fischer *et al.*, 1998; Yuste and Bonhoeffer, 2001; Lamprecht and Ledoux, 2004; Bosch and Hayashi, 2015). El mecanismo que lleva a cabo esta movilización se da con la ayuda de las proteínas de unión a actina, como el complejo de proteínas 2 y 3 relacionadas con actina (Arp2/3), la cofilina y la profilina; y la familia de GTPasas Rho, de la cual participan principalmente el homólogo Ras miembro de la familia A (RhoA), el sustrato de toxina botulínica C3 relacionado con Ras 1 (Rac1) y el homólogo de la proteína 42 de control de división celular (Cdc42). Este mecanismo consiste en una serie de rutas de señalización que empiezan al estimularse uno de los receptores de membrana, por ejemplo, el receptor glutaminérgico NMDA. Al activarse y provocar un influjo de  $Ca^{+2}$  hacia el interior, comienza así la transducción de la señal que irá activando ciertas quinasas, como la CaMKII. Las rutas de señalización provocan la activación de las moléculas que regulan la puesta en marcha de las GTPasas, los factores de intercambio de guanina (GEFs), que catalizan el cambio de GDP a GTP activando así las GTPasas; y las proteínas de activación de GTPasas (GAPs), que aumentan la hidrólisis de GTP a GDP, inactivándolas. De esta manera, al activarse Rac1 mediante la acción de los GEFs, se ponen en marcha quinasas como la quinasa activada por sinapsis p21 (PAK), que activan las proteínas de unión a la actina, como Arp2/3 y la profilina, promoviendo la polimerización de la actina; y la quinasa LIM 1 (LIMK-1), que provoca la inhibición de la cofilina, una proteína que normalmente despolimeriza la actina. Estas proteínas de unión a la actina también pueden ser activadas por Cdc42 mediante PAK. Por otro lado, la activación de RhoA regula negativamente de manera que mediante la quinasa asociada a Rho (ROCK), activa también la LIMK-1 e inhibe la cofilina. (Figura 9). Cuando las GTPasas están activadas, se promueve la polimerización y se inhibe la despolimerización, y al estar inactivas sucede lo contrario, lo que da lugar al ciclo que provoca la movilización rápida de la actina que permite los cambios en las espinas dendríticas tras su estimulación. Los receptores AMPA también toman parte en el proceso de formación de espinas dendríticas ya que tienen un papel estabilizador sobre el citoesqueleto y los filamentos de actina. En este sentido, cuando se acaba la reorganización de la actina, los cambios estructurales se estabilizan y consolidan gracias a la acción de estos receptores. (Lamprecht and Ledoux, 2004; Rex *et al.*, 2009; Penzes and Rafalovich, 2012; Leung *et al.*, 2017)



**Figura 9. Mecanismo general de la formación y modificación de espinas dendríticas.**

### *Regulación de la estructura sináptica por glucocorticoides*

Como se ha explicado en el apartado sobre la LTP, los glucocorticoides como la corticosterona (CORT) son hormonas que se liberan por las glándulas adrenales controladas por el reloj central, de forma que su liberación se hace con un ritmo circadiano en el que los picos coinciden con el principio de la noche y los valles con el principio del día. Se ha observado que los receptores de glucocorticoides (GR) están presentes en las espinas dendríticas del hipocampo y que, gracias a ellos, se pueden regular los cambios morfológicos de éstas gracias al efecto que tienen sobre las GTPasas Rho (Jafari *et al.*, 2012). Por una parte, en un estudio realizado por Komatsuzaki *et al.* 2012, se confirma que la corticosterona en concentraciones de 200 nM a 1000 nM induce significativamente la formación de espinas dendríticas en las neuronas piramidales CA1 en las 2 primeras horas (Figura 10). Los GR de membrana necesitan una concentración de un poco más 200 nM para activarse (Maggio and Segal,

2010), lo cual coincide con ese rango para que se dé el aumento de formación de espinas. El mecanismo que se sugiere es el siguiente: la activación de los receptores de membrana de glucocorticoides, debido a un aumento en la concentración de corticosterona, provoca que se active la PKA y, con esto, la MAPK/ERK, la cual es un punto convergente en muchas rutas de señalización. La MAPK/ERK fosforila una proteína que se asocia a la actina conocida como cortactina, la cual interactúa con el dominio SH3 del complejo Arp 2/3, que al activarse promueve la polimerización de actina y, con ello, la formación de espinas dendríticas o los cambios en su morfología (Komatsuzaki *et al.*, 2012; Ikeda *et al.*, 2015). Otros estudios proponen un mecanismo de acción mediado por los GR pero afectando a la GTPasa RhoA, que al ser activada por los glucocorticoides vía PKC, activa la ROCK y la LIMK-1, que fosforila la cofilina inhibiéndola y bloqueando así la despolimerización de la actina; de esta manera, también se promueven los cambios en la morfología de las espinas (Jafari *et al.*, 2012; Ikeda *et al.*, 2015). Con esto, se puede deducir que durante la noche (fase activa) se aumentará la formación de espinas dendríticas generando así nuevas conexiones debido al efecto de glucocorticoides como corticosterona; mientras que durante el día (fase inactiva), la formación y modificación de espinas se verá reducida por los niveles bajos de glucocorticoides. Al disturbar los ritmos endógenos de corticosterona, se provoca una disminución de la formación de nuevas que resulta en una memoria dañada tras el aprendizaje (Ikeda *et al.*, 2015) (Figura 11)

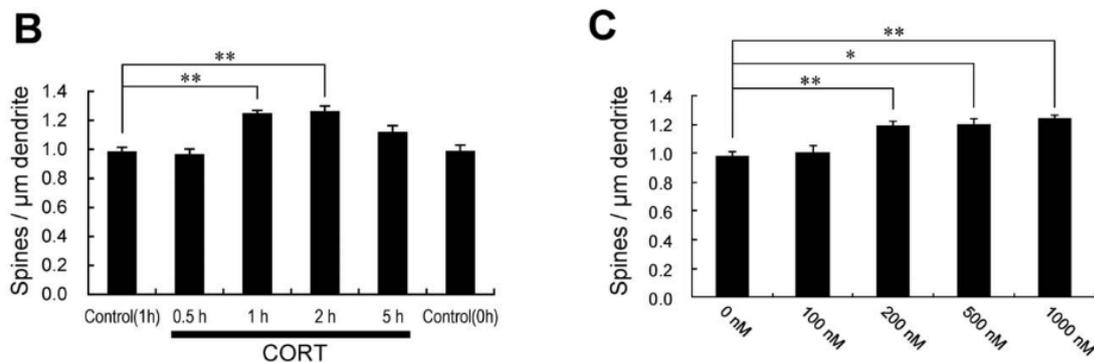
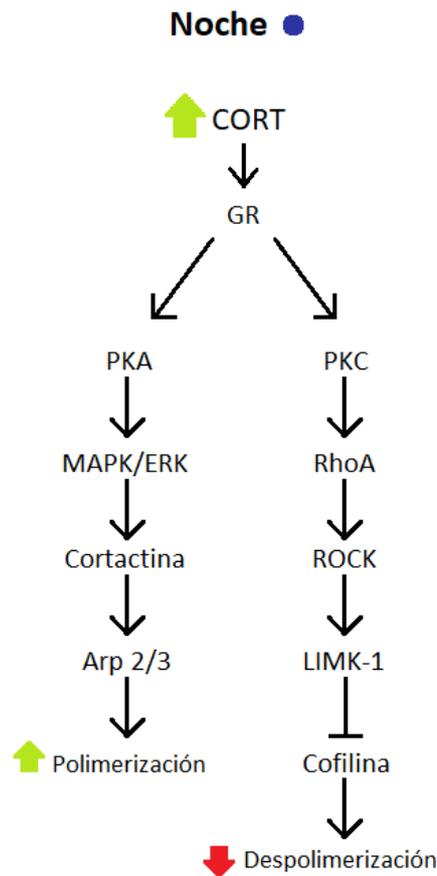


Figura 10. Gráfico del efecto sobre las espinas dendríticas de corticosterona (Komatsuzaki *et al.*, 2012).



**Figura 11. Mecanismo de acción y efectos de la corticosterona sobre las espinas dendríticas durante el ciclo circadiano.**

### *Regulación de la estructura sináptica por melatonina*

La melatonina modula la organización de los componentes que forman el citoesqueleto, como los filamentos de actina. La concentración de filamentos se ve incrementada durante la noche, coincidiendo con los altos niveles de melatonina que se segregan durante la noche, y debido a este incremento, se aumenta la reorganización de citoesqueleto, dando lugar a una variación circadiana en este proceso (Jiménez-Rubio, Ortiz-López and Benítez-King, 2012). Los mecanismos que llevan a cabo esta regulación de la melatonina sobre la organización de los filamentos de actina no está todavía clara, pero se ha podido confirmar la intervención de quinasas como la PKC, cuya activación, debida a la presencia de melatonina, provoca un aumento en la concentración de actina polimerizada en un 40% (Benítez-King, 2006). Teniendo en cuenta la activación de esta quinasa, es posible que el mecanismo que lleva a cabo la reorganización de la actina mediada por la melatonina sea a través de RhoA, que puede ser activada por la PKC (Ikeda *et al.*, 2015). En el estudio de Ikeno *et al.*, 2015, se observa un efecto diferente de la melatonina sobre las neuronas de la región CA1 y el giro dentado: la complejidad y longitud de las dendritas incrementa en las neuronas de la región CA1 aunque la densidad de espinas dendríticas no varía; mientras que en el giro dentado no se observan

cambios significativos sobre las dendritas, pero la densidad de espinas dendríticas se ve reducida durante la noche (Figura 12). Esto puede suceder debido a que las neuronas del giro dentado se ven limitadas por la neurogénesis, ya que su desarrollo depende de la supervivencia y el proceso de maduración (Ikeno and Nelson, 2015). De tales resultados y conclusiones se puede deducir la posibilidad de un ciclo que relacione los cambios morfológicos y el proceso de neurogénesis en el giro dentado del hipocampo. En el caso de las neuronas de la región CA1, como no hay formación de nuevas neuronas, no se ven limitados los cambios morfológicos por la maduración neuronal.

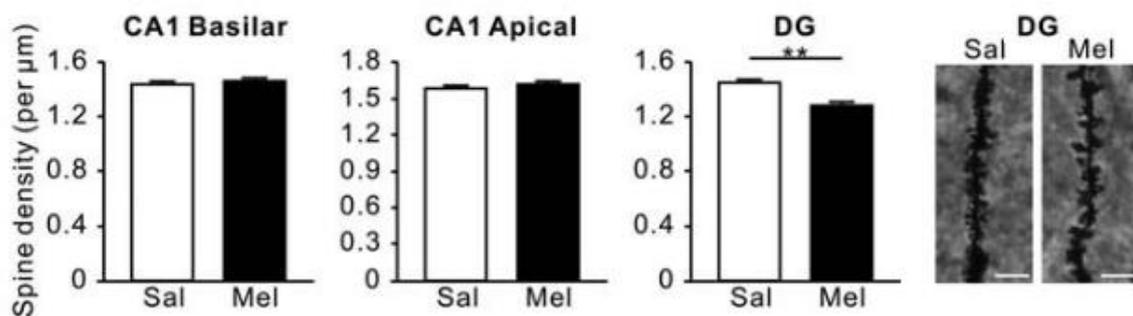


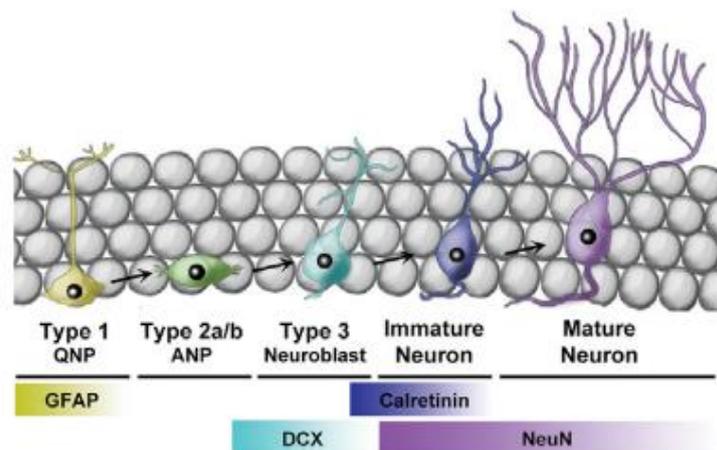
Figura 12. Efecto de la melatonina sobre la densidad de espinas dendríticas en la región CA1 y el giro dentado. (Ikeno and Nelson, 2015).

## Regulación circadiana de la neurogénesis adulta

### *Mecanismo de la neurogénesis adulta*

La neurogénesis en mamíferos es un proceso por el cual se generan nuevas neuronas a partir de precursores neuronales, pero este proceso solo ocurre en áreas restringidas del cerebro: la zona subgranular del giro dentado en el hipocampo y la zona subventricular de los ventrículos laterales. Inicialmente se creía que este proceso solo ocurría durante los estados embrionarios y perinatales del individuo, pero más tarde se descubrió que en estados adultos también se da la neurogénesis y que tiene un importante papel en la renovación de circuitos neuronales, esencial para la plasticidad sináptica o el desarrollo del cerebro (Ming & Song, 2011). La neurogénesis adulta se da en una gran variedad de especies mamíferas, incluyendo los roedores. Este proceso se puede dividir en proliferación celular, diferenciación y maduración, y la supervivencia de las células. Las células progenitoras neuronales expresan proteína ácida fibrilar de la glía (GFAP), como la glía radial, que es un marcador de la astrogliá. Durante la primera fase de proliferación, éstas se dividen en la capa subgranular y continúan expresando GFAP, dando lugar a células precursoras nuevas en la capa granular. Estas nuevas células precursoras pasan por varias fases intermedias en las que irán expresando diferentes marcadores, como la doblecortina (DCX). Tras la división, comienza la

diferenciación de las células precursoras, en la que éstas eligen y siguen su destino neuronal. Aproximadamente el 90% de las células nuevas pasan a ser neuronas inmaduras y a sintetizar proteínas específicas como calbindina, enolasa específica neuronal y núcleos neuronales (NeuN); mientras que las restantes se diferencian en glía y continúan expresando GFAP. (Schoenfeld & Gould, 2012). Las nuevas neuronas inmaduras migran hasta la zona más interior de la capa granular y ahí se diferencian en células granulares del hipocampo, donde extienden sus axones hasta conectar con las neuronas de la región CA3, incorporándose así a los circuitos mediante procesos de integración sináptica. (Ming & Song, 2011) (Figura 13). Además, estas nuevas neuronas sufren cambios relacionados con su excitación ya que, en primer lugar, responden al ácido gamma-aminobutírico (GABA), que normalmente actúa como un inhibidor, de forma positiva provocando una excitación, muestran hiperexcitabilidad y un aumento de la plasticidad sináptica; y durante su maduración, estas características desaparecen y pasan a ser las propias de las neuronas maduras. (Ming & Song, 2011; Schoenfeld & Gould, 2012). Por último, la supervivencia de las células comprende desde su maduración, la incorporación y mantenimiento en el tiempo en los circuitos neuronales del hipocampo, aunque también es un factor importante para las células precursoras. La mayoría de las neuronas generadas en roedores durante la neurogénesis adulta no sobreviven pasadas unas pocas semanas y se mueren por apoptosis. Su maduración, incorporación y supervivencia depende de varios factores, entre ellos factores ambientales como por ejemplo los ritmos de liberación de algunas hormonas (Leuner & Gould, 2010; Schoenfeld & Gould, 2012).



**Figura 13.** Esquema simplificado sobre las fases y marcadores en la neurogénesis adulta de mamíferos roedores (Bouchard-Cannon *et al.*, 2013).

### *Relación de la neurogénesis adulta con el reloj celular*

En varios estudios se habla de que las células progenitoras del giro dentado en el hipocampo que participan en el proceso de neurogénesis presentan componentes del reloj celular, otorgando así un importante papel de los ritmos circadianos sobre este proceso relacionado con la plasticidad sináptica (Bouchard-Cannon *et al.*, 2013; Rakai *et al.*, 2014; Ali *et al.*, 2015). Los resultados demuestran que los componentes principales *Bmal1* y *Per2*, que se expresan en fases contarias, son cruciales para que se dé una correcta proliferación y desarrollo de las células nuevas hasta convertirse en neuronas, y que los estudios hechos con roedores *knockout* para estos genes muestran una neurogénesis con ritmos anormales con respecto a los modelos salvajes. *Per2*, el cual se expresa mayoritariamente durante el día, limita la entrada de las células en el ciclo de división; por otro lado, *Bmal1*, componente cuya máxima expresión es durante la noche, promueve la entrada y salida de las células del ciclo de división (Bouchard-Cannon *et al.*, 2013). Para que la neurogénesis se dé correctamente, es necesario el buen funcionamiento del reloj celular, ya que los ratones *knockout* para estos genes presentan unas fases de proliferación y diferenciación alteradas en el tiempo con respecto a los tipos salvaje. Por ejemplo, en ausencia de *Per2*, las células entran en el ciclo de división de igual forma en todo el día; y en ausencia de *Bmal1*, las células que entran en el ciclo de división aumentan y se retrasa su salida, aumentando desproporcionadamente la proliferación a cualquier hora del día, disminuyendo el pool de células progenitoras y disminuyendo también la diferenciación de los precursores en neuronas, debido a que la división no cesa. (Figura 14) (Bouchard-Cannon *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2015). Además, los ratones *knockout* para *Bmal1* presentan una mayor supervivencia celular, de manera que el número de muertes se ve reducido y con ello, la renovación de neuronas en los circuitos, corrompiendo así el funcionamiento del hipocampo (Rakai *et al.*, 2014). De estos estudios se puede deducir que la neurogénesis presenta ritmos circadianos gracias al buen funcionamiento del reloj celular de las células progenitoras del hipocampo, dando lugar a un ciclo diurno donde durante la noche, cuando es máxima la expresión de *Bmal1*, se da la proliferación que permite que las células comiencen a dividirse y salgan correctamente del ciclo; mientras que, durante el día, cuando se expresa sobre todo *Per2*, las células no vuelven al ciclo de división, por tanto, se empiezan a diferenciar.

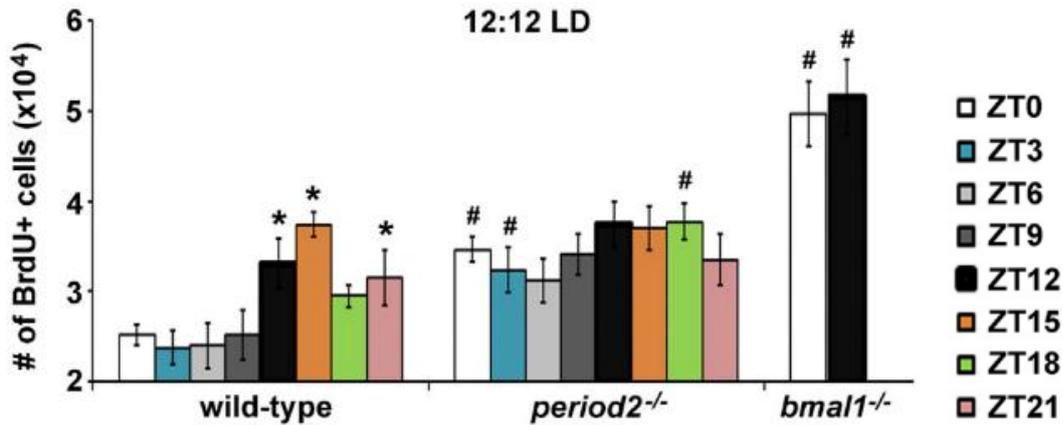


Figura 14. Efectos de la ausencia de *period2* y *bmal1* en la fase de proliferación de la neurogénesis adulta en el giro dentado del hipocampo. De ZT0 a ZT9 se da la expresión de *Per2*, mientras que *Bmal1* se expresa de ZT12 a ZT21.

#### *Relación de los glucocorticoides con la neurogénesis adulta*

Generalmente, los niveles altos de glucocorticoides como la corticosterona provocan un efecto inhibitorio sobre la neurogénesis, ya que inhiben la proliferación actuando sobre los receptores GR que presentan las células progenitoras en el giro dentado del hipocampo (Mirescu and Gould, 2006). Estas hormonas, que tienen un ritmo de liberación circadiana, ejercen su efecto negativo cuando los niveles aumentan (durante la noche), de manera que la proliferación celular, la muerte celular y la migración de las neuronas se ven reducidas; y cuando los niveles se mantienen bajos (durante el día), se ven aumentadas. Pero como se comenta en otros apartados, el efecto de los glucocorticoides tiene una relación en forma de U invertida, de manera que, tanto a niveles muy bajos como a niveles muy altos, sus efectos acaban siendo negativos. Por ejemplo, al eliminar las glándulas adrenales se aumenta tanto la proliferación celular y la muerte celular, pero la muerte supera a la proliferación causando una gran disminución en el número de células (Gould *et al.*, 1992). Además, esta relación también se hace visible en los efectos sobre la supervivencia celular en las diferentes fases de la neurogénesis: niveles demasiado bajos de CORT justo antes de la división de las células progenitoras provocan una reducción de la supervivencia, mantener estos niveles bajos durante la fase postmitótica incrementa la supervivencia de las células progenitoras (Wong and Herbert, 2004). De estos estudios se puede concluir que las oscilaciones en los niveles de CORT son muy importantes para el proceso de neurogénesis, ya que se limita la proliferación durante la noche y se mantiene la supervivencia de las nuevas células durante el día.

### Relación de la melatonina con la neurogénesis adulta

La melatonina tiene un efecto positivo sobre la neurogénesis, ya que, además de su carácter neuroprotector antiapoptótico (Reiter, 1998), promueve la supervivencia de las células precursoras que se diferenciarán en neuronas, aumentando de esta manera la diferenciación neuronal, pero sin afectar a la proliferación. Así, el efecto final de la melatonina no sería sobre la proporción de nuevas neuronas, sino sobre la neurogénesis neta. (Figura 15A) (Ramírez-Rodríguez, Klempin, Babu, Benítez-King, & Kempermann, 2009; Rennie, De Butte, & Pappas, 2009). Según el estudio realizado por Ramírez-Rodríguez *et al.* 2009, las células precursoras presentan receptores para melatonina a través de los cuales la hormona ejerce parcialmente su efecto modulador, confirmando este hecho mediante pruebas con el antagonista luzindol que, al bloquear los receptores, se inhibe, pero no totalmente el efecto de la melatonina. Además, en este estudio se muestra un incremento significativo de las células marcadas con doblecortina (DCX) y calretinina (CR), concluyendo así que la melatonina actúa durante la fase intermedia del precursor, en la cual la célula expresa DCX y aún tiene capacidad de división celular, y también durante la post-mitótica de la célula inmadura, caracterizada por la expresión de CR, además de DCX (Figura 15B). Por último, destacar que en el estudio se muestra que la dosis más efectiva de melatonina coincide con la concentración nocturna en el plasma y fluido cerebrospinal ( $10^{-6}$  y  $10^{-4}$  mM, respectivamente) llegando a incrementar hasta un 28% el número de células supervivientes que tomarán parte en la diferenciación, y que la desregulación de los ritmos circadianos de la melatonina tiene efectos negativos en la neurogénesis, de manera que se reduce la supervivencia celular. Con esto se concluye que, la presencia de melatonina y su ritmo circadiano de liberación son esenciales para la formación de nuevas neuronas en el hipocampo.

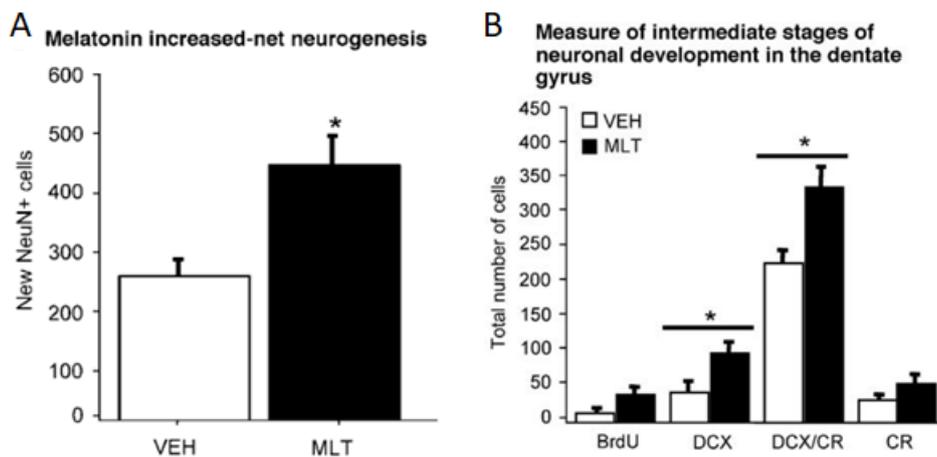


Figura 15. Efectos de la melatonina en la neurogénesis adulta del hipocampo. En el gráfico A se muestra la neurogénesis neta del control y con melatonina. En el B se muestra el número de células según el marcador que expresan del control y con melatonina (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2009).

## Discusión

Cada uno de los factores escogidos tiene su propio efecto y mecanismo sobre los procesos de plasticidad sináptica, sin embargo, hay que tener en cuenta que éstos no actúan de manera independiente en el organismo, sino que interactúan entre sí para llevar a cabo una buena regulación y, con ello, un funcionamiento correcto.

Diferentes estudios confirman que las características de la LTP varían en función del día. Por ejemplo, en roedores la LTP presenta una mayor facilidad de inducción y mayor magnitud durante la noche (fase activa) que durante el día (fase inactiva) (Jilg *et al.*, 2010; Frank, 2016; Parekh and McClung, 2016; Snider, Sullivan and Obrietan, 2018). De acuerdo con la investigación que se ha realizado, se podría pensar que no coincide con la afirmación anterior, ya que, por ejemplo, la melatonina, que es liberada mayormente por la noche, ejerce un efecto inhibitorio sobre la LTP, reduciendo su magnitud (Wang *et al.*, 2005), asimismo la corticosterona también puede inhibir la inducción de la LTP en altas concentraciones, como las que se dan al final de la noche o durante episodios de estrés (Maggio and Segal, 2010). Sin embargo, a pesar de estos efectos inhibitorios, también se ha observado un incremento de la LTP cuando ésta coincide con un aumento en los niveles de corticosterona (Joëls, Krugers and Karst, 2007; Tse, Bagot and Wong, 2012). Estos hechos apuntan a un posible efecto conjunto entre la acción de inhibición y de aumento de ambas hormonas para favorecer la estimulación de unas sinapsis, promoviendo el aumento de la fuerza de éstas, a la vez que se inhiben otras, limitando la sobreestimulación durante la noche, en la que normalmente llegan muchos estímulos externos debido a la actividad nocturna del roedor.

Por otro lado, algunos componentes del reloj celular también muestran tener un efecto sobre el mecanismo de la LTP, por ejemplo, la expresión de PERIOD1 durante el día, provoca un aumento en la fosforilación del factor CREB asociado a la fase dependiente de síntesis de proteínas de la LTP (Rawashdeh *et al.*, 2016). Estos resultados concuerdan con que la formación y consolidación de memoria, también dependiente del momento del día, es mayor durante el día en roedores nocturnos, es decir, durante su fase inactiva (Gerstner and Yin, 2010). Esta diferencia entre la inducción de la LTP y la formación de la memoria se puede deber a que este proceso se divide en dos fases: la fase temprana, en la que se inicia la LTP y se activan rutas de señalización por quinasas, y la fase tardía, en la que se activa la expresión de genes y síntesis de proteínas (Lynch, 2004; Miyamoto, 2006). De este modo se podría concluir que la fase temprana, que tarda unas 2-3 horas, sucedería principalmente durante la noche (fase activa) debido a que hay más cantidad de estímulos, además de una mayor facilidad en la inducción y mayor magnitud de la LTP, favorecidas por la acción de corticosterona; mientras que, la fase tardía o por lo menos su inicio, que puede durar desde varias

horas hasta días, sucederá principalmente durante el día (fase inactiva), dándose la formación y consolidación de la memoria a largo plazo gracias a la síntesis de proteínas. En relación a los mecanismos de acción descritos, mediante los cuales tanto las hormonas como el reloj celular toman parte en la regulación de la LTP, comentar que, en general, estos factores actúan sobre las quinasas, activándolas o inhibiéndolas, de modo que, aunque la interacción se dé en los componente que toman parte en la fase temprana, al final el efecto es sobre la fase tardía (aumento o reducción de la expresión de genes y síntesis de proteínas), como la consecuencia de la acción de estas quinasas. Además, cabe destacar la MAPK/ERK como punto de convergencia de las diferentes rutas de señalización que se dan, no solo durante la LTP, sino también durante los cambios estructurales que suceden después (Lynch, 2004; Kandel, Dudai and Mayford, 2014; Bosch and Hayashi, 2015).

Estos cambios estructurales modifican las sinapsis existentes o crean nuevas, principalmente, mediante cambios en las espinas dendríticas, ya que la mayoría de sinapsis excitatorias suceden en estas estructuras (Fischer *et al.*, 1998; Lamprecht and Ledoux, 2004; Bosch and Hayashi, 2015). Con respecto a esto, mientras que no se han encontrado estudios sobre la modulación del reloj celular en las espinas dendríticas, sí que hay documentados sobre las hormonas melatonina y corticosterona.

Por un lado, la corticosterona ha resultado tener un efecto positivo sobre la formación y modificación de dendritas en concentraciones moderadas, de forma que el aumento en la concentración de la hormona hasta 1000 nM en las células de la región CA1 provoca una mayor formación de éstas, de lo que se puede deducir que durante la noche habrá un aumento en la densidad de espinas dendríticas como consecuencia del incremento de CORT que se da al principio de la noche (Komatsuzaki *et al.*, 2012). Por otro lado, la melatonina, aunque promueve la reorganización de la actina (Jiménez-Rubio, Ortíz-López and Benítez-King, 2012), no tiene ningún efecto sobre la densidad de espinas dendríticas de las neuronas CA1, pero sí fomenta el crecimiento en longitud y la complejidad de las dendritas en éstas; en cambio, sí tiene efecto sobre las espinas del giro dentado, las cuales se ven reducidas durante la noche, cuando los niveles de melatonina se ven aumentados, aunque las dendritas no se ven afectadas (Ikeno and Nelson, 2015).

Los efectos de estas hormonas concuerdan con la regulación que ejercen sobre la LTP, además de que el mecanismo de acción que toma parte en la reorganización del esqueleto de actina en las espinas dendríticas comparte rutas de señalización, como los receptores NMDA y las quinasas PKC, CaMKII y MAPK/ERK. Hechos que concuerdan con lo que se afirma en numerosos estudios: que los cambios morfológicos acompañan a la LTP, iniciándose un poco después de su inducción (Yuste and Bonhoeffer, 2001; Lamprecht and Ledoux, 2004). Con esto, es lógico pensar que, cuando la LTP en las sinapsis de la CA1 se vea aumentada durante la noche al coincidir con la acción de corticosterona,

ésta haga también efecto sobre la estructura de las espinas dendríticas varios minutos después; en contraste, la melatonina, también liberada durante la noche, que tiene un efecto inhibitorio que provoca una reducción en la magnitud de la LTP, no provoca cambios en las espinas dendríticas de las neuronas de la región CA1. Así, se reafirma que mediante la regulación por hormonas cuya máxima liberación coincide con la fase activa, ciertas conexiones se verán reforzadas gracias al aumento de la fuerza sináptica y los cambios morfológicos que acompañan, y otras se verán limitadas, permitiendo una posterior consolidación de la memoria formada por los recuerdos que se han obtenido y su contexto temporal.

En cuanto a los cambios morfológicos descritos en el giro dentado, se piensa que están relacionados en mayor medida con la neurogénesis, ya que esta reducción de las espinas dendríticas puede deberse a que las neuronas del giro dentado están limitadas por la fase de diferenciación y maduración de las nuevas neuronas formadas tras la división celular, y dependen de que terminen para comenzar el desarrollo (Ikkeno and Nelson, 2015). Como se ha podido observar en esta revisión, la neurogénesis que consta de varias fases (proliferación, diferenciación y maduración) además de la supervivencia de las células, está modulada tanto por el reloj celular como por hormonas (Leuner and Gould, 2010; Ming and Song, 2011; Bouchard-Cannon *et al.*, 2013). Los efectos en conjunto sobre la neurogénesis concuerdan entre sí: el reloj celular marca un ritmo circadiano en la proliferación celular mediado por los componentes *Bmal1* y *Per2*, que son cruciales para que la neurogénesis se dé correctamente. Mediante la expresión de *Per2* se mantiene una tasa de división reducida durante el día. Las células progenitoras entran en fase de proliferación durante la noche gracias al cese de la expresión de *Per2*, que limitaba su entrada al ciclo de división, y a la expresión de *Bmal1* (Bouchard-Cannon *et al.*, 2013), y esta proliferación está muy probablemente modulada por la corticosterona, que mediante su acción reduce la proliferación celular durante la noche, ejerciendo un límite sobre esta fase de la neurogénesis (Gould *et al.*, 1992), además de incrementar la supervivencia al coincidir las oscilaciones de su concentración con diferentes estados de la célula (Wong and Herbert, 2004). Por otro lado, la melatonina promueve la supervivencia de estas nuevas células que han formado durante la noche, para que, al acabar la fase proliferativa, se puedan diferenciar y generar nuevas neuronas. De este modo, estos tres factores actúan conjuntamente para dar lugar a un proceso de neurogénesis eficaz y coordinado con los ritmos circadianos del organismo, favoreciendo cada fase en el momento adecuado. Además, la contribución de la neurogénesis a los procesos de formación de memoria se evidencia en varios estudios, donde la capacidad de aprendizaje y memoria está influida por la incorporación de nuevas neuronas a los circuitos, renovándolos y evitando así la saturación debida a el aumento de la fuerza sináptica entre

conexiones mediada por la LTP, de manera que se permite la formación de nueva memoria (Ming and Song, 2011; Alam *et al.*, 2017).

## Conclusión

El sistema circadiano regula el proceso de formación de memoria mediante factores que actúan sobre los mecanismos de plasticidad sináptica del hipocampo. Estos factores actúan en conjunto para modular los cambios sinápticos y estructurales, sincronizando el proceso formación de memoria con el ciclo circadiano. Aunque sabe poco sobre el sentido funcional del papel del ritmo circadiano sobre la plasticidad, numerosos estudios muestran que alteraciones del sistema circadiano, perjudican la correcta formación de memoria y el recuerdo de ésta. Una posibilidad es que éste tenga una función adaptativa, como el de asociar momentos vividos con tiempo del día, otorgando a los recuerdos una organización temporal. Otra posible función, que además coincide con lo que se ha podido observar durante el estudio, podría ser la de optimizar el proceso de aprendizaje y memoria, separando en el tiempo las fases de inducción y consolidación, y con ello, permitir un mejor control y potenciación en los momentos más importantes para cada fase, o la compensación de los gastos energéticos que supone la puesta en marcha de los mecanismos necesarios. De cualquier modo, para poder esclarecer más puntos clave sobre este tema, será necesario continuar investigando los diversos efectos y mecanismos que toman parte en la regulación circadiana de la plasticidad sináptica.

## Bibliografía

- Alam, J. *et al.* (2017) 'Adult Neurogenesis Conserves Hippocampal Learning Capacity', *bioRxiv*, pp. 200–253. doi: 10.1101/200253.
- Albrecht, A. and Stork, O. (2017) 'Circadian Rhythms in Fear Conditioning: An Overview of Behavioral, Brain System, and Molecular Interactions', *Neural Plasticity*, 2017. doi: 10.1155/2017/3750307.
- Ali, A. A. H. *et al.* (2015) 'Premature aging of the hippocampal neurogenic niche in adult Bmal1-deficient mice', *Aging. Impact Journals*, LLC, 7(6), pp. 435–449. doi: 10.18632/aging.100764.
- Aschoff, J. (1960) 'Exogenous and endogenous components in circadian rhythms.', *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 25, pp. 11–28. doi:10.1101/SQB.1960.025.01.004.
- Bashir, Z. I. and Collingridge, G. L. (1992) 'Synaptic plasticity: long-term potentiation in the hippocampus.', *Current opinion in neurobiology*, 2(3), pp. 328–335. doi: 10.1016/0959-4388(92)90124-4.
- Benítez-King, G. (2006) 'Melatonin as a cytoskeletal modulator: Implications for cell physiology and disease', *Journal of Pineal Research*, 40(1), pp. 1–9. doi: 10.1111/j.1600-079X.2005.00282.x.
- Bosch, M. and Hayashi, Y. (2015) 'Structural plasticity of dendritic spines', *Current opinion in neurobiology*, 22(3), pp. 383–388. doi: 10.1016/j.conb.2011.09.002.Structural.

- Bouchard-Cannon, P. *et al.* (2013) 'The Circadian Molecular Clock Regulates Adult Hippocampal Neurogenesis by Controlling the Timing of Cell-Cycle Entry and Exit', *Cell Reports*, 5(4), pp. 961–973. doi: 10.1016/j.celrep.2013.10.037.
- Burgess, N., Maguire, E. A. and O'Keefe, J. (2002) 'The human hippocampus and spatial and episodic memory.', *Neuron*, 35(4), pp. 625–641. doi: 10.1016/S0896-6273(02)00830-9.
- Dubocovich, M. L. and Markowska, M. (2005) 'Functional MT1 and MT2 melatonin Receptors in Mammals', *Endocrine*, 27(2), pp. 101–110. doi: 10.1385/ENDO:27:2:101.
- Fischer, M. *et al.* (1998) 'Rapid actin-based plasticity in dendritic spines.', *Neuron*, 20(5), pp. 847–854. doi: 10.1016/S0896-6273(00)80467-5.
- Frank, M. (2016) 'Circadian Regulation of Synaptic Plasticity', *Biology*, 5(3), p. 31. doi: 10.3390/biology5030031.
- Gerstner, J. R. and Yin, J. C. P. (2010) 'Circadian rhythms and memory formation', *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group, 11(8), pp. 577–588. doi: 10.1038/nrn2881.
- Gould, E. *et al.* (1992) 'Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus.', *The Journal of Neuroscience*, 12(9), pp. 3642–3650. doi: 10.1007/s11576-006-0057-3.
- Hernández-Rosas, F. and Santiago-García, J. (2010) 'Ritmos circadianos, genes reloj y cáncer', *Archivos de Medicina*, 6(2). doi: 10.3823/059.
- Ikeda, M. *et al.* (2015) 'Hippocampal spine changes across the sleep-wake cycle: Corticosterone and kinases', *Journal of Endocrinology*, 226(2), pp. M13–M27. doi: 10.1530/JOE-15-0078.
- Ikeno, T. and Nelson, R. J. (2015) 'Acute melatonin treatment alters dendritic morphology and circadian clock gene expression in the hippocampus of Siberian hamsters', *Hippocampus*, 25(2), pp. 142–148. doi: 10.1002/hipo.22358.
- Jafari, M. *et al.* (2012) 'Glucocorticoid receptors are localized to dendritic spines and influence local actin signaling.', *Molecular neurobiology*, 46(2), pp. 304–315. doi: 10.1007/s12035-012-8288-3.
- Jilg, A. *et al.* (2010) 'Temporal dynamics of mouse hippocampal clock gene expression support memory processing', *Hippocampus*, 20(3), pp. 377–388. doi: 10.1002/hipo.20637.
- Jiménez-Rubio, G., Ortíz-López, L. and Benítez-King, G. (2012) 'Melatonin modulates cytoskeletal organization in the rat brain hippocampus', *Neuroscience Letters*, 511(1), pp. 47–51. doi: 10.1016/j.neulet.2012.01.040.
- Joëls, M., Krugers, H. and Karst, H. (2007) 'Stress-induced changes in hippocampal function', *Progress in Brain Research*, 167, pp. 3–15. doi: 10.1016/S0079-6123(07)67001-0.
- Kandel, E. R., Dudai, Y. and Mayford, M. R. (2014) 'The molecular and systems biology of memory', *Cell*. Elsevier Inc., 157(1), pp. 163–186. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.001.
- Ko, C. H. and Takahashi, J. S. (2006) 'Molecular components of the mammalian circadian clock', *Human Molecular Genetics*, 15(2), pp. 271–277. doi: 10.1093/hmg/ddl207.
- Komatsuzaki, Y. *et al.* (2012) 'Corticosterone induces rapid spinogenesis via synaptic glucocorticoid receptors and kinase networks in hippocampus', *PLoS ONE*, 7(4), p. e34124. doi: 10.1371/journal.pone.0034124.
- Lamprecht, R. and Ledoux, J. (2004) 'Structural plasticity and memory', *Nature Reviews Neuroscience*, 5(1), pp. 45-54. doi: 10.1038/nrn1301.

- Leuner, B. and Gould, E. (2010) 'Structural plasticity and hippocampal function.', *Annual review of psychology*, 61, pp. 111–140, C1-3. doi: 10.1146/annurev.psych.093008.100359.
- Leung, C. *et al.* (2017) 'Role of G Protein-Coupled Receptors in the Regulation of Structural Plasticity and Cognitive Function', *Molecules*, 22(7), p. 1239. doi: 10.3390/molecules22071239.
- Lu, C. and Malenka, R. C. (2012) 'NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP / LTD)', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(6), pp. 1–15. doi: 10.1101/cshperspect.a005710.
- Lynch, M. (2004) 'Long-term Potentiation and Memory', *Physiological reviews*, 84(1), pp. 87–136. doi:10.1142/9789814366700\_0001.
- Maggio, N. and Segal, M. (2010) 'Corticosteroid regulation of synaptic plasticity in the hippocampus', *TheScientificWorldJournal*, 10, pp. 462–469. doi: 10.1100/tsw.2010.48.
- Ming, G. li and Song, H. (2011) 'Adult Neurogenesis in the Mammalian Brain: Significant Answers and Significant Questions', *Neuron*. Elsevier Inc., 70(4), pp. 687–702. doi: 10.1016/j.neuron.2011.05.001.
- Mirescu, C. and Gould, E. (2006) 'Stress and adult neurogenesis', *Hippocampus*, 16(3), pp. 233–238. doi: 10.1002/hipo.20155.
- Miyamoto, E. (2006) 'Molecular Mechanism of Neuronal Plasticity: Induction and Maintenance of Long-Term Potentiation in the Hippocampus', *Journal of Pharmacological Sciences*, 100(5), pp. 433–442. doi: 10.1254/jphs.CPJ06007X.
- Parekh, P. K. and McClung, C. A. (2016) 'Circadian mechanisms underlying reward-related neurophysiology and synaptic plasticity', *Frontiers in Psychiatry*, 6(187), pp. 1–11. doi: 10.3389/fpsyt.2015.00187.
- Penzes, P. and Rafalovich, I. (2012) 'Regulation of the actin cytoskeleton in dendritic spines', *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 970, pp. 81–95. doi: 10.1007/978-3-7091-0932-8\_4.
- Rakai, B. D. *et al.* (2014) 'Survival of adult generated hippocampal neurons is altered in circadian arrhythmic mice', *PLoS ONE*, 9(6), p. e99527. doi: 10.1371/journal.pone.0099527.
- Ramírez-Rodríguez, G. *et al.* (2009) 'Melatonin Modulates Cell Survival of New Neurons in the Hippocampus of Adult Mice', *Neuropsychopharmacology*, 34, pp. 2180–2191. doi: 10.1038/npp.2009.46.
- Rawashdeh, O. *et al.* (2014) 'PERIOD1 coordinates hippocampal rhythms and memory processing with daytime', *Hippocampus*, 24(6), pp. 712–723. doi: 10.1002/hipo.22262.
- Rawashdeh, O. *et al.* (2016) 'Period1 gates the circadian modulation of memory-relevant signaling in mouse hippocampus by regulating the nuclear shuttling of the CREB kinase pP90RSK', *Journal of Neurochemistry*, 138, pp. 731–745. doi: 10.1111/jnc.13689.
- Rawashdeh, O., Parsons, R. and Maronde, E. (2018) 'Clocking In Time to Gate Memory Processes: The Circadian Clock Is Part of the Ins and Outs of Memory', *Neural Plasticity*, 2018. doi: 10.1155/2018/6238989.
- Rex, C. S. *et al.* (2009) 'Different Rho GTPase-dependent signaling pathways initiate sequential steps in the consolidation of long-term potentiation', *Journal of Cell Biology*, 186(1), pp. 85–97. doi: 10.1083/jcb.200901084.

- Roberson, E. D. *et al.* (1999) 'The mitogen-activated protein kinase cascade couples PKA and PKC to cAMP response element binding protein phosphorylation in area CA1 of hippocampus.', *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(11), pp. 4337–4348. doi: 10341237.
- Smarr, B. L. *et al.* (2014) 'A Time to Remember: The Role of Circadian Clocks in Learning and Memory', *Behavioural Neuroscience*, 128(3), pp. 283–303. doi: 10.1037/a0035963.A.
- Snider, K. H., Sullivan, K. A. and Obrietan, K. (2018) 'Circadian Regulation of Hippocampal-Dependent Memory: Circuits, Synapses, and Molecular Mechanisms', *Neural Plasticity*, 2018. doi: 10.1155/2018/7292540.
- Sweatt, J. D. (1999) 'Toward a Molecular Explanation for Long-Term Potentiation', *Learn and Memory*, 6(5), pp. 399–416. doi: 10.1101/lm.6.5.399.
- Tse, Y. C., Bagot, R. C. and Wong, T. P. (2012) 'Dynamic regulation of NMDAR function in the adult brain by the stress hormone corticosterone.', *Frontiers in cellular neuroscience*, 6, pp. 6-9. doi: 10.3389/fncel.2012.00009.
- Wang, L. M. *et al.* (2005) 'Melatonin inhibits hippocampal long-term potentiation', *European Journal of Neuroscience*, 22(9), pp. 2231–2237. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04408.x.Melatonin.
- Wong, E. Y. H. and Herbert, J. (2004) 'The corticoid environment: A determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus', *European Journal of Neuroscience*, 20(10), pp. 2491–2498. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03717.x.
- Yuste, R. and Bonhoeffer, T. (2001) 'MORPHOLOGICAL CHANGES IN DENDRITIC SPINES ASSOCIATED WITH LONG-TERM SYNAPTIC PLASTICITY', *Annual Review of Neuroscience*, 24, pp. 1071–1089. doi: 10.1146/annurev.neuro.24.1.1071.