

ORIGINAL

El aprendizaje motor induce cambios plásticos en las espinas dendríticas de las células de Purkinje del cerebelo de ratas[☆]



D. González-Tapia^{a,b,c}, M.M. González-Ramírez^a, N. Vázquez-Hernández^a
e I. González-Burgos^{a,*}

^a División de Neurociencias, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS, Guadalajara, Jalisco, México

^b Universidad Politécnica de la Zona Metropolitana de Guadalajara, Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, México

^c Instituto de Ciencias de la Rehabilitación Integral, Guadalajara, Jalisco, México

Recibido el 12 de septiembre de 2017; aceptado el 10 de octubre de 2017

PALABRAS CLAVE

Cerebelo;
Célula de Purkinje;
Actividad motora;
Aprendizaje motor;
Plasticidad;
Espinass dendríticas

Resumen

Introducción: El lóbulo paramediano del cerebelo está involucrado en el desempeño correcto de las habilidades motoras a través de la práctica. Las espinas dendríticas son estructuras dinámicas que regulan la estimulación sináptica excitadora. En este trabajo se estudiaron los posibles cambios plásticos en espinas de células de Purkinje del lóbulo paramediano cerebelar de ratas, durante el aprendizaje motor.

Métodos: Se entrenaron a ratas macho adultas durante un período de seis días, en un paradigma de aprendizaje motor acrobático y se cuantificó tanto la densidad como los tipos de espinas dendríticas en cada uno de los seis días de estudio, mediante una modificación al método de Golgi.

Resultados: La curva de aprendizaje reflejó una disminución consistente de los errores cometidos en el transcurso de los días de entrenamiento. Así mismo, se observaron más espinas dendríticas en los días 2 y 6 y, en particular, más espinas delgadas en los días 1, 3 y 6, menos espinas en hongo el día 3, menos espinas gordas el día 1 y más espinas anchas los días 4 y 6.

Conclusión: El período inicial de aprendizaje motor podría estar asociado con el procesamiento rápido de la información sináptica subyacente y con un aparente «silenciamiento» de los procesos de consolidación mnémica, en una base de regulación de la excitabilidad neuronal.

© 2017 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[☆] Una parte de este trabajo fue presentado en el XLV Congreso de la Society for Neuroscience.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: igonbur@hotmail.com (I. González-Burgos).

KEYWORDS

Cerebellum;
Purkinje cell;
Motor activity;
Motor learning;
Plasticity;
Dendritic spines

Motor learning induces plastic changes in Purkinje cell dendritic spines in the rat cerebellum

Abstract

Introduction: The paramedian lobule of the cerebellum is involved in learning to correctly perform motor skills through practice. Dendritic spines are dynamic structures that regulate excitatory synaptic stimulation. We studied plastic changes occurring in the dendritic spines of Purkinje cells from the paramedian lobule of rats during motor learning.

Methods: Adult male rats were trained over a 6-day period using an acrobatic motor learning paradigm; the density and type of dendritic spines were determined every day during the study period using a modified version of the Golgi method.

Results: The learning curve reflected a considerable decrease in the number of errors made by rats as the training period progressed. We observed more dendritic spines on days 2 and 6, particularly more thin spines on days 1, 3, and 6, fewer mushroom spines on day 3, fewer stubby spines on day 1, and more thick spines on days 4 and 6.

Conclusion: The initial stage of motor learning may be associated with fast processing of the underlying synaptic information combined with an apparent "silencing" of memory consolidation processes, based on the regulation of the neuronal excitability.

© 2017 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La neuroplasticidad subyace a la respuesta restauradora del cerebro ante los factores ambientales que deterioran los procesos neurobiológicos. El daño neuropatológico que provoca la disfunción motora es comúnmente seguido por respuestas plásticas que actúan para restaurar la actividad normal a diferentes niveles, incluyendo el de los contactos sinápticos. Sin embargo, la restauración espontánea de la función motora perdida es infrecuente, lo que sugiere que algunos de los eventos neuroplásticos que tienen lugar durante el período de recuperación no son eficientes. De hecho, estos son escasamente conocidos.

Para lograr la recuperación ciertas habilidades deben ser reaprendidas, un proceso en el que la actividad del cerebelo desempeña un papel preponderante¹⁻³. El lóbulo paramediano de la corteza neocerebelar está estrechamente relacionado con el aprendizaje motor. Las células de Purkinje (CP) del lóbulo paramediano de la corteza cerebelar integran la información aferente procedente de los sistemas neurales tanto extrínsecos como intrínsecos que es necesaria para codificar los patrones subyacentes al aprendizaje motor. Se han reportado cambios plásticos en las sinapsis distales entre las CP y las fibras paralelas (FP) de las células granulares subyacentemente al aprendizaje motor por parte de ratas que han sido entrenadas para adquirir nuevas habilidades motoras⁴⁻⁶. Correspondientemente, se ha reportado un aumento de espinas dendríticas en las dendritas distales de las PC después de un período de 26 días de aprendizaje motor acrobático, en el cual, el número de traspiés cometidos en la prueba disminuyó durante los seis primeros días para luego estabilizarse asintóticamente^{4,7,8}. Estos hallazgos sugieren la ocurrencia de eventos neuroplásticos a nivel de las sinapsis distales entre FP y CP mediadas por espinas dendríticas en el lóbulo paramediano cerebelar, durante el período crítico del aprendizaje motor. De acuerdo con Doyon y Benali² y Dayan y Cohen⁹, las habilidades motoras

se aprenden después de varias fases distintas cuya duración depende de la tarea impuesta. La primera es la llamada fase «rápida», en la cual la adquisición de habilidades motoras resulta ser significativamente evidente y cuya eficiencia mejora considerablemente conforme dicha fase transcurre.

Las espinas dendríticas pueden sufrir varios tipos de cambios plásticos, incluyendo neoformación, reabsorción y remodelación geométrica; particularmente en relación con la «traducción» de la información aferente¹⁰⁻¹⁴. Dado que las sinapsis FP-CP están involucradas en la modulación del aprendizaje motor, se llevó a cabo un estudio sobre la citoarquitectura de las espinas dendríticas distales de las CP de la corteza del lóbulo paramediano del cerebelo de ratas entrenadas de acuerdo con un paradigma de aprendizaje motor.

Material y métodos

Se utilizaron 72 ratas macho adultas (250-300 g) de la cepa Sprague-Dawley, las cuales fueron mantenidas en condiciones estándar: ciclos de 12 h de luz y oscuridad (07:00-19:00 h), 45-50% de humedad ambiental, temperatura ambiental de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y libre acceso a agua y alimento convencional para roedores. Los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social (México) y se realizaron de acuerdo con las pautas del Instituto Nacional de Salud para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NIH Publicaciones N.º 80-23, revisión de 1996).

Se formaron dos grupos: un grupo experimental (AC; $n = 36$) fue sometido a una prueba de aprendizaje motor acrobático durante seis días consecutivos y, un grupo control (MT; $n = 36$) recorrió la misma distancia que el grupo AC, pero en una superficie plana sin obstáculo alguno. Los 36 animales de cada grupo fueron subdivididos en seis subgrupos ($n = 6$ / subgrupo). Los seis animales de cada subgrupo tanto de AC

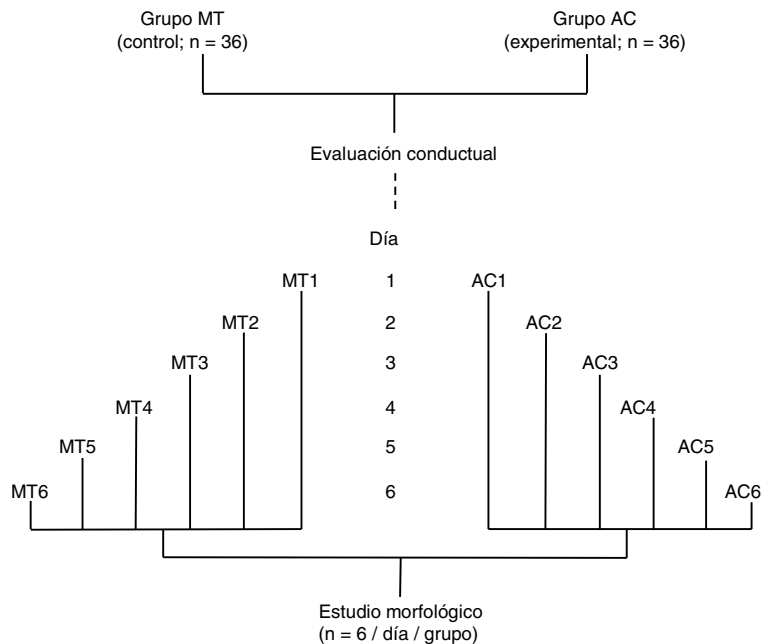


Figura 1 Representación esquemática del diseño experimental.

como de MT llevaron a cabo la prueba en días consecutivos, desde el día 1 (AC1 / MT1) al día 6 (AC6 / MT6), de manera que el número de días de entrenamiento fue aumentando por subgrupo (fig. 1). De acuerdo con estudios previos⁶⁻⁸, el período de aprendizaje motor rápido^{2,9} en un paradigma de tiempo espaciado¹⁵ ocurre durante la primera semana de entrenamiento.

Estudio conductual

Los animales del grupo AC fueron entrenados para cruzar una ruta elevada (4,25 m a 1 m sobre el nivel del piso) en cuatro ensayos por día sin límite de tiempo, con intervalos de 60 seg entre ensayos, entre las 11:00 y las 14:00 h. La ruta consistió en una secuencia de una cadena de acero (50 cm de largo), una escalera horizontal de madera (10 cm de ancho y 50 cm de largo) cuyos peldaños estaban recubiertos por popotes rodantes, un tubo de alambre tejido (30 cm de diámetro y 80 cm de longitud), una escalera de madera horizontal cubierta de bolas pequeñas de ábaco (10 cm de ancho y 60 cm de largo), barras paralelas (5 cm de ancho y 50 cm de largo), barras paralelas con una armadura cruzada de ligas (15 cm de ancho y 60 cm de largo) y una barra simple de equilibrio (2 cm de ancho y 75 cm de largo). Al final de la ruta se colocó una jaula a manera de estancia de escape⁷. Debido a que las ratas necesitaban coordinación motora y equilibrio para superar los obstáculos a lo largo del camino, se cuantificó tanto el tiempo necesario para completar la prueba como el número de fallas de pie (errores) cometidas por ensayo, como índices de aprendizaje motor. Los animales de cada grupo de estudio se alojaron en grupos de seis animales por jaula, manteniéndose las jaulas de mantenimiento en una estancia diferente a la utilizada para el entrenamiento.

Estudio morfológico

Inmediatamente después de terminar el entrenamiento conductual de los seis animales de AC y MT correspondientes a cada día, estos se anestesiaron con ketamina (30 mg / kg im) y pentobarbital sódico (50 mg / kg ip). Enseguida fueron perfundidos con 200 ml de solución salina amortiguada con solución de fosfatos (pH 7,4; 0,01 M) que contenía heparina sódica (1.000 UI / L) como anticoagulante y clorhidrato de procaína (1 g / l) como vasodilatador¹⁶. Acto seguido,

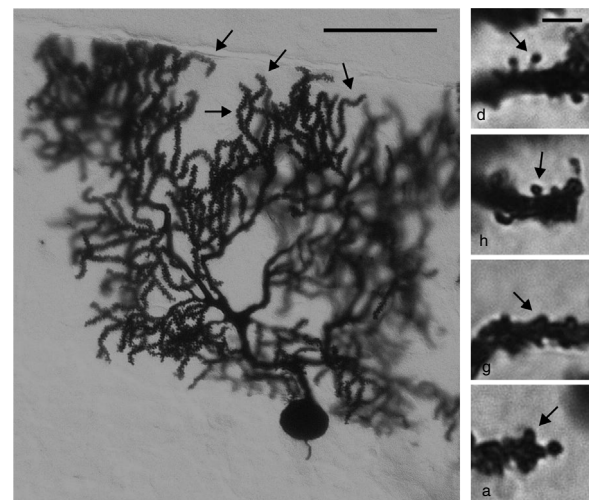


Figura 2 Panel izquierdo: fotomicrografía de una célula de Purkinje de la corteza del lóbulo paramediano del cerebelo. Las flechas indican ramificaciones dendríticas distales en las cuales se realizaron los conteos de espinas. Escala: 100 μ m. Panel derecho: fotomicrografías representativas de espinas delgada d), en hongo h), gorda g) y ancha a) (flechas), como aquellas que se contaron en este estudio. Escala: 2 μ m.

los animales fueron perfundidos con 200 ml de una solución fijadora a base de formaldehído al 4% amortiguado. Ambas soluciones fueron perfundidas con un flujo de 11,5 ml / min. Los cerebros de los animales se obtuvieron por craneotomía y se mantuvieron durante 48 h en 100 ml de solución fijadora fresca. Se diseccionó un bloque de tejido de 3 mm de espesor de ambos hemisferios cerebelares que contenían el lóbulo paramediano¹⁷ y fueron impregnados de acuerdo con una variante del método de Golgi¹⁸. A partir de cortes sagitales de 75 μ m de espesor, se estudiaron «en ciego» seis CP claramente visibles de cada rata. En cada una de las seis células estudiadas por rata, las espinas dendríticas se contaron en un tramo total de 50 μ m a partir de 3-4 ramificaciones terminales dendríticas apicales distales al soma (fig. 2, panel izquierdo).

Se cuantificaron la densidad numérica y la densidad proporcional de espinas delgadas, en hongo, gordas y anchas; de acuerdo con criterios previamente establecidos^{11,19-23} (fig. 2, panel derecho). El conteo se realizó a 2.000 $\times$, utilizando un cambiador de aumento acoplado a un microscopio óptico con un objetivo 100 $\times$ APO y un analizador de imágenes (LAS 4.0).

Análisis estadístico

Tanto el tiempo como el número de errores, así como la densidad de espinas dendríticas y los tipos de espinas se promediaron para los seis animales estudiados en el día correspondiente y se realizaron comparaciones entre los subgrupos 1, 2, 3, 4, 5, o 6 mediante ANOVA de dos vías (grupos $\times$ días), seguido de la prueba *t* de Student para muestras independientes.

Resultados

Aprendizaje motor

Tiempo

Los animales del grupo AC tardaron más en cruzar la ruta que aquellos del grupo MT, en cada uno de los días de entrenamiento: día 1: $t = -7.847$, $p < 0,0001$; día 2: $t = -4.847$, $p < 0,001$; día 3: $t = -4.137$, $p < 0,002$; día 4: $t = -5.543$, $p < 0,0001$; día 5: $t = -8.081$, $p < 0,0001$; día 6: $t = -11.675$, $p < 0,0001$. No hubo diferencias en el tiempo en que los animales del grupo AC recorrieron la ruta entre ninguno de los seis días de estudio. Por su parte, los subgrupos correspondientes a MT mostraron diferencias en el tiempo para completar la prueba ($F = 21.614$, $p < 0,0001$); MT2 ($p < 0,0001$), MT3 ($p < 0,0001$), MT4 ($p < 0,0001$), MT5 ($p < 0,0001$) y MT6 ($p < 0,0001$) recorrieron la ruta en menos tiempo que el subgrupo MT1. No hubo diferencias entre MT2, MT3, MT4, MT5 y MT6 subgrupos (fig. 3).

Errores

Los errores cometidos por los animales del grupo AC disminuyeron con el paso de los días de prueba ($F = 20.169$, $p < 0,0001$). En comparación con el día 1, cometieron menos errores en los días 2 ($p < 0,003$), 3 ($p < 0,0001$), 4 ($p < 0,0001$), 5 ($p < 0,0001$) y 6 ($p < 0,0001$). Además, en los

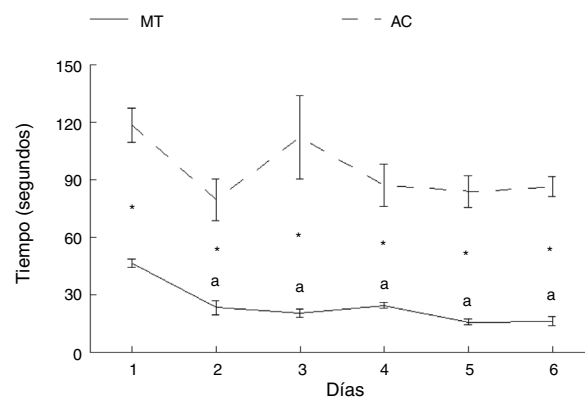


Figura 3 Gráfica que muestra el tiempo en el cual los animales de los grupos MT y AC completaron la prueba conductual, a lo largo de los seis días de entrenamiento. Media $\pm$ EEM. La significación estadística se fijó en una $p < 0,05$. Asteriscos: AC vs. MT; a, vs. día 1.

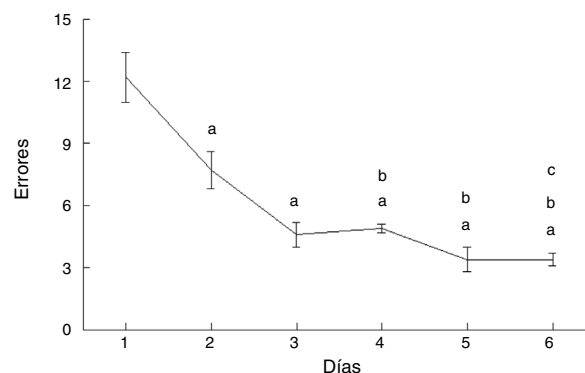


Figura 4 Comparación intragrupal del número de errores cometidos por los animales del grupo AC en los seis días de entrenamiento. Media $\pm$ EEM. La significación estadística se fijó en una $p < 0,05$. a, vs. día 1; b, vs. día 2; c, vs. día 3.

días 4 ($p < 0,03$), 5 ($p < 0,004$) y 6 ($p < 0,004$) cometieron menos errores que aquellos del subgrupo AC2, en tanto que el día 6 cometieron menos errores que el día 4 ($p < 0,02$) (fig. 4).

Densidad de espinas dendríticas

La densidad de espinas dendríticas en las células de Purkinje del lóbulo paramediano de los subgrupos AC2 ($t = -3.713$, $p < 0,004$) y AC6 ($t = -2.577$, $p < 0,02$) fue mayor que en los subgrupos control correspondientes MT2 y MT6, respectivamente (fig. 5).

Tipos de espinas dendríticas

Los animales de los subgrupos AC1, AC3 y AC6 tuvieron más espinas delgadas que los subgrupos control MT1, MT3 y MT6 ($t = -2.709$, $p < 0,02$; $t = -2.223$, $p < 0,05$; $t = -2.235$, $p < 0,04$; respectivamente). Por su parte, AC3 mostró menos espinas en hongo que su control MT3 ($t = 3.452$, $p < 0,006$). La densidad de espinas gordas fue menor en AC1 que en MT1 ($t = 3.059$, $p < 0,01$), en tanto que los animales del subgrupo AC4 tuvieron más espinas anchas que MT4 ($t = -4.902$, $p < 0,001$).

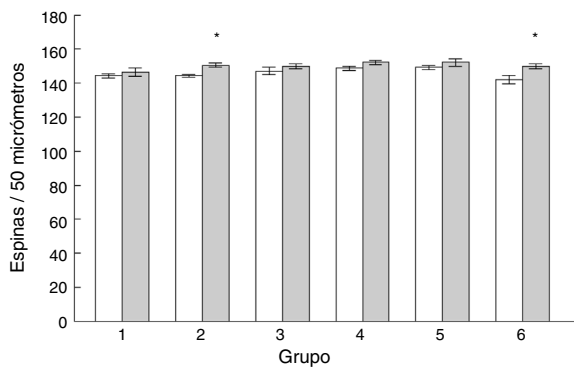


Figura 5 Densidad de espinas dendríticas en las células de Purkinje de la corteza del lóbulo paramediano cerebelar de los animales entrenados (barras grises) y de los animales control (barras blancas). Media $\pm$ EEM. La significación estadística (asteriscos) se fijó en una $p < 0,05$.

0,001), al igual que AC6 con respecto a MT6 ($t = -2.976$, $p < 0,01$) (tabla 1).

Discusión

El lóbulo paramediano del cerebelo participa en la integración de información relacionada con el aprendizaje motor, como ha sido reportado en estudios que muestran incremento en la actividad metabólica de esta región cerebelar durante los días iniciales de la adquisición de habilidades motoras^{9,24}. Con base en lo anterior, la actividad cerebelar podría estar influenciada por cambios en el procesamiento de la información sináptica entre FP y CP⁴⁻⁶, a partir de la remodelación de las espinas dendríticas mediada por el aprendizaje motor. En concordancia con lo anterior, en el presente estudio se observó un aumento de espinas dendríticas en CP durante el período rápido de aprendizaje

motor, correspondientemente con una reducción en los errores cometidos en el recorrido de la ruta acrobática impuesta.

Aunque la distancia recorrida por los animales experimentales y control fue la misma, el tiempo empleado para recorrer la ruta con obstáculos fue mayor, lo que se podría explicar a partir de que las demandas motrices fueron más complejas para el grupo experimental. Aunque la latencia para completar la tarea por parte de los animales con entrenamiento acrobático no fue significativa en comparación con el día 1, se observó una tendencia a disminuir, lo que estaría parcialmente de acuerdo con reportes previos^{7,8}.

De acuerdo con estudios anteriores^{7,8} el número de errores cometidos por las ratas del grupo experimental disminuyó con el transcurso de los días de entrenamiento. Esto se podría interpretar como un aumento gradual y progresivo de la precisión y control de la actividad motora y demuestra la ocurrencia de un proceso de aprendizaje^{25,26}. Las entradas sinápticas a la región dendrítica apical de las CP tienen una relación directa con la organización de los eventos psiconeurales que conducen a un mejor desempeño de las habilidades motoras^{1,4-8,27} y, de acuerdo con otros autores²⁸, la estimulación sináptica subyacente podría estar relacionada tanto con la potenciación como con la depresión de las sinapsis entre fibras paralelas y espinas dendríticas de CP. Así, la eficiencia gradual observada a lo largo del entrenamiento podría haber implicado modificaciones estructurales de las sinapsis en el lóbulo paramediano cerebelar¹⁵, que podrían corresponder a cambios plásticos en las espinas dendríticas, como de hecho fueron observados en el presente estudio.

El mayor número de espinas dendríticas registrado en los días dos y seis de entrenamiento sugiere un mayor nivel de actividad presináptica como resultado del aprendizaje motor. Varios estudios han asociado el aumento de espinas dendríticas con una mayor actividad presináptica^{29,30}, incluida la relacionada con el aprendizaje motor^{19,28,31}. Más aún, además de la densidad de espinas, los cambios plásticos de los tipos de espinas dendríticas también podrían estar involucrados en los eventos neurobiológicos

Tabla 1 Densidad proporcional de los diferentes tipos de espinas dendríticas en las células de Purkinje del lóbulo, paramediano del cerebelo, en cada uno de los días de entrenamiento conductual

Día	1	2	3	4	5	6
Grupo						
Tipo de espina						
<i>Delgada</i>						
MT	72,9 $\pm$ 0,8	77,9 $\pm$ 2,4	77,3 $\pm$ 2,0	81,0 $\pm$ 1,8	83,2 $\pm$ 2,8	79,4 $\pm$ 3,3
AC	80,8 $\pm$ 2,7*	81,6 $\pm$ 1,2	85,0 $\pm$ 2,7*	82,1 $\pm$ 2,8	84,0 $\pm$ 2,4	87,5 $\pm$ 1,3*
<i>En hongo</i>						
MT	27,3 $\pm$ 1,4	25,9 $\pm$ 0,5	30,3 $\pm$ 0,8	29,6 $\pm$ 0,5	25,8 $\pm$ 1,4	25,7 $\pm$ 1,3
AC	26,1 $\pm$ 0,8	28,1 $\pm$ 2,6	25,9 $\pm$ 0,9*	29,5 $\pm$ 1,8	29,7 $\pm$ 1,6	23,7 $\pm$ 1,2
<i>Gorda</i>						
MT	32,5 $\pm$ 0,3	29,5 $\pm$ 0,9	27,4 $\pm$ 1,4	27,9 $\pm$ 1,3	28,2 $\pm$ 1,0	28,5 $\pm$ 0,7
AC	29,9 $\pm$ 0,7*	27,9 $\pm$ 0,9	29,4 $\pm$ 0,9	27,6 $\pm$ 0,9	26,7 $\pm$ 0,5	28,1 $\pm$ 0,5
<i>Ancha</i>						
MT	8,2 $\pm$ 0,9	9,2 $\pm$ 1,1	8,7 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,4	8,8 $\pm$ 0,5	6,5 $\pm$ 0,7
AC	8,2 $\pm$ 0,4	9,6 $\pm$ 0,1	8,5 $\pm$ 0,1	11,7 $\pm$ 0,6*	9,4 $\pm$ 0,7	8,8 $\pm$ 0,3*

AC: grupo experimental; MT: grupo control.

Media $\pm$ EEM.

* $p < 0,05$.

subyacentes al procesamiento de información relacionado con el aprendizaje de habilidades motoras. Las CP poseen varios tipos de espinas dendríticas que se distinguen por su forma geométrica, incluyendo delgadas, en hongo, gordas y anchas¹⁹⁻²¹. Las espinas delgadas están relacionadas con la neurotransmisión sináptica rápida y altamente eficiente, con la inducción de la potenciación a largo plazo³², y con los eventos asociados con la adquisición de información o aprendizaje novedoso^{13,14}. Por su parte, los estímulos sinápticos en espinas de hongos son procesados en el núcleo de la célula, lo que se ha vinculado a la consolidación de la información adquirida previamente a manera de trazos de memoria^{13,14}. Cuando la estimulación sináptica de las neuronas es lo suficientemente alta como para no permitir la integración sináptica¹⁹, la actividad funcional de las espinas gordas y anchas participarían regulando la excitabilidad de la propia neurona postsináptica^{11,12,33}, en virtud de carecer de un cuello estrecho^{34,35}.

Las espinas delgadas mostraron una tendencia a ser más abundantes en todos los días de entrenamiento, siendo significativas los días 1, 3 y 6. Dada la exposición de los animales a una experiencia novedosa en el primer día de entrenamiento y que la transmisión de esta nueva información mediada por sinapsis con espinas delgadas en las CP implica el procesamiento rápido de la información³⁶, el aumento de este tipo de espinas parece haber sido funcionalmente significativo. El aumento de las espinas delgadas también podría estar causalmente relacionado con la naturaleza de la tarea conductual impuesta. Se ha demostrado que el volumen de la cabeza de las espinas grandes disminuye después del aprendizaje espaciado y que pueden cambiar lo suficiente como para transformarse en la variedad delgada¹⁵, lo cual estaría relacionado con la potenciación y depresión de largo plazo asociadas con la actividad sináptica en los contactos entre FP y PC²⁸. Por lo tanto, la mayor densidad de espinas delgadas en forma sostenida a lo largo del entrenamiento podría subyacer a la adquisición cada vez más precisa de las habilidades necesarias para resolver la tarea conductual, esto es, al aprendizaje motor.

La densidad de espinas en hongo solo fue diferente el día 3 del entrenamiento, al cual fue menor respecto a su correspondiente control. Dado que las espinas en hongo se relacionan con el almacenamiento de la información^{13,14}, este hallazgo resulta relevante al asociarlo con el mayor número de espinas delgadas. En conjunto, estos eventos podrían significar que la actividad sináptica relacionada con el desempeño motor sería secundaria a la adquisición de la misma, representada por la preponderancia de las espinas delgadas. De ser así, la capacidad de adquirir nueva información no estaría sometida a la eventual consolidación de la información representada por las espinas en hongo, lo que se traduce en una capacidad «liberada» para adquirir consistentemente información novedosa durante todos los días del entrenamiento. Lo anterior estaría de acuerdo con reportes previos que muestran incremento de todos los tipos de espinas (incluidas las en hongo) cuatro semanas después de la imposición de un paradigma de aprendizaje motor semejante al del presente estudio y en el que después de la primera semana del entrenamiento la curva de aprendizaje ya no se modifica tras una etapa inicial de aprendizaje consistente^{4,7,8}. Esto sugiere que la información requerida

para realizar la tarea de manera eficiente y sostenida había sido consolidada presumiblemente con la participación preponderante de espinas en hongo como mediadoras de los procesos sinápticos asociados al aprendizaje motor.

La proporción de espinas gordas fue menor el día 1 de entrenamiento, en tanto que la de las espinas anchas fue mayor los días 4 y 6. La menor cantidad de espinas gordas el día 1 podría significar que las entradas sinápticas a las CP podrían ser altamente específicas al correlacionarse con el incremento proporcional de espinas delgadas observado este mismo día del entrenamiento. Por su parte, la mayor cantidad de espinas anchas registrada los últimos días del entrenamiento sugiere que, aunque aún existe un proceso activo de aprendizaje de habilidades motoras, el sometimiento a la realización de la tarea que cada vez se realiza con mayor eficiencia implicaría actividad sináptica funcionalmente redundante lo cual, de ser así, se reflejaría en un incremento de las espinas implicadas en la regulación de la actividad sináptica aferente, como es el caso de las anchas.

La evidencia anterior apunta a una estrecha relación entre la adquisición de nuevas habilidades motoras y la plasticidad de las espinas dendríticas. En este sentido, se ha reportado que el aprendizaje motor induce cambios plásticos «no lineales» en las espinas dendríticas durante etapas sucesivas de entrenamiento³⁷, lo cual está claramente de acuerdo con los hallazgos del presente estudio.

Algunas otras conexiones sinápticas entre los elementos neuronales que componen la corteza del lóbulo paramediano del cerebelo estarían involucradas en la integración de información relacionada con el aprendizaje motor³⁸⁻⁴⁰ y, más aún, probablemente no solo el paramediano sino también otros lóbulos cerebelares⁴¹. Además, las posibles variaciones en la citoarquitectura de las CP de diferentes zonas⁴² en el mismo lóbulo paramediano también podrían considerarse como una fuente de variaciones plásticas en la citoarquitectura de las espinas que eventualmente afectarían el aprendizaje motor. Estas posibilidades requieren de investigaciones posteriores.

El presente trabajo destaca la importancia de los fenómenos plásticos a nivel sináptico en las etapas iniciales del aprendizaje motor, que influyen para favorecer la adquisición de habilidades motoras en condiciones normales o neuropsicopatológicas.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el Fondo de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social, con número de registro FIS/IMSS/PROT/G14/1336.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Carey MR. Synaptic mechanisms of sensorimotor learning in the cerebellum. *Curr Opin Neurobiol.* 2011;21:609–15.

2. Doyon J, Benali H. Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills. *Curr Opin Neurobiol*. 2005;15:161–7.
3. Floyer-Lea A, Matthews PM. Distinguishable brain activation networks for short- and long-term motor skill learning. *J Neurophysiol*. 2005;94:512–8.
4. Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Greenough WT. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1990;87:5568–72.
5. Kleim JA, Vij K, Ballard DH, Greenough WT. Learning-dependent synaptic modifications in the cerebellar cortex of the adult rat persist for at least four weeks. *J Neurosci*. 1997;17:717–21.
6. Kleim JA, Swain RA, Armstrong KA, Napper RE, Jones TA, Greenough WT. Selective synaptic plasticity within the cerebellar cortex following complex motor skill learning. *Neurobiol Learn Mem*. 1998;69:274–89.
7. González-Tapia D, Velázquez-Zamora DA, Olvera-Cortés ME, González-Burgos I. The motor learning induces plastic changes in dendritic spines of Purkinje cells from the neocerebellar cortex of the rat. *Restor Neurol Neurosci*. 2015;33:639–45.
8. Lee KJ, Jung JG, Arai T, Imoto K, Rhyu IJ. Morphological changes in dendritic spines of Purkinje cells associated with motor learning. *Neurobiol Learn Mem*. 2007;88:445–50.
9. Dayan E, Cohen LG. Neuroplasticity subserving motor skill learning. *Neuron*. 2011;72:443–54.
10. Bourne J, Harris KM. Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? *Curr Opin Neurobiol*. 2007;17:1–6.
11. González-Burgos I. Dendritic spines plasticity and learning /memory processes: Theory evidence and perspectives. En: Baylog LR, editor. *Dendritic spines. Biochemistry, modelling and properties*. New York: Nova Science Publishers; 2009. p. 163–86.
12. González-Burgos I. From synaptic transmission to cognition: an intermediary role for dendritic spines. *Brain Cogn*. 2012;80:177–83.
13. Kasai H, Matsuzaki M, Noguchi J, Yasumatsu N, Nakahara H. Structure-stability-function relationships of dendritic spines. *TINS*. 2003;26:360–8.
14. Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GCR, Kasai H. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*. 2004;429:761–6.
15. Aziz W, Wang W, Kesaf S, Mohamed AA, Fukazawa Y, Shigemoto R. Distinct kinetics of synaptic structural plasticity, memory formation, and memory decay in massed and spaced learning. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:E194–202.
16. Feria-Velasco A, Karnovsky MJ. Optimal central nervous system preservation with glutaraldehyde perfusion for ultrastructural study. *Arch Inv Med*. 1970;1:201–20.
17. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York: Academic Press; 1986.
18. González-Burgos I, Tapia-Arizmendi G, Feria-Velasco A. Golgi method without osmium tetroxide for the study of the central nervous system. *Biotech Histochem*. 1992;67:288–96.
19. González-Burgos I, González-Tapia D, Velázquez-Zamora DA, Feria-Velasco A, Beas-Zárate C. Guided motor training induces dendritic spine plasticity in adult rat cerebellar Purkinje cells. *Neurosci Lett*. 2011;491:216–20.
20. Lee KJ, Kim H, Rhyu IJ. The roles of dendritic spine shapes in Purkinje cells. *Cerebellum*. 2005;4:97–104.
21. Velázquez-Zamora DA, Martínez-Degollado M, González-Burgos I. Morphological development of dendritic spines on rat cerebellar Purkinje cells. *Int J Dev Neurosci*. 2011;29:515–20.
22. Harris KM, Jensen FE, Tsao B. Ultrastructure, development and plasticity of dendritic spine synapses in area CA1 of the rat hippocampus: Extending our vision with serial electron microscopy and three-dimensional analyses. En: Chan-Palay V, Kohler C, editores. *The hippocampus-new vistas*. New York: Alan R. Liss; 1989. p. 33–52.
23. Tarelo-Acuña L, Olvera-Cortés ME, González-Burgos I. Prenatal and postnatal exposure to ethanol induces changes in the shape of the dendritic spines from hippocampal CA1 pyramidal neurons of the rat. *Neurosci Lett*. 2000;286:13–6.
24. Doyon J, Penhune V, Ungerleider LG. Distinct contribution of the cortico-striatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. *Neuropsychologia*. 2003;41:252–62.
25. Krakauer JW, Mazzoni P. Human sensorimotor learning: adaptation, skill, and beyond. *Curr Opin Neurobiol*. 2011;21:636–44.
26. Reis J, Schambra HM, Cohen LG, Buch ER, Fritsch B, Zarahn E, et al. Noninvasive cortical stimulation enhances motor skill acquisition over multiple days through an effect on consolidation. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2009;106:1590–5.
27. Anderson BJ, Alcantara AA, Greenough WT. Motor-skill learning: changes in synaptic organization of the rat cerebellar cortex. *Neurobiol Learn Mem*. 1996;66:221–9.
28. Nishiyama H. Learning-induced structural plasticity in the cerebellum. *Int Rev Neurobiol*. 2014;117:1–19.
29. Foxworthy WA, Clemo HR, Meredith MA. Laminar and connective organization of a multisensory cortex. *J Comp Neurol*. 2013;521:1867–90.
30. Liu T, Kong D, Shah BP, Ye C, Koda S, Saunders A, et al. Fast-acting activation of AgRP neurons requires NMDA receptors and involves spinogenesis and increased excitatory tone. *Neuron*. 2012;73:511–22.
31. Kim HT, Kim IH, Lee KJ, Lee JR, Park RK, Chun YH, et al. Specific plasticity of parallel fiber/Purkinje cell spine synapses by motor skill learning. *Neuroreport*. 2002;13:1607–10.
32. Popov VI, Davies VI, Rogachevsky VV, Patrushev IV, Errington ML, Gabbott PL, et al. Remodelling of synaptic morphology but unchanged synaptic density during late phase long-term potentiation (LTP): a serial section electron micrograph study in the dentate gyrus in the anaesthetised rat. *Neuroscience*. 2004;128:251–62.
33. Harris KM, Jensen FE, Tsao B. Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. *J Neurosci*. 1992;12:2685–705.
34. Koch C, Zador A, Brown TH. Dendritic spines: convergence of theory and experiment. *Science*. 1992;256:973–4.
35. Koch C, Zador A. The function of dendritic spines: devices subserving biochemical rather than electrical compartmentalization. *J Neurosci*. 1993;13:413–22.
36. Holtmaat AJ, Trachtenberg JT, Wilbrecht L, Shepherd GM, Zhang X, Knott GW, et al. Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. *Neuron*. 2005;45:279–91.
37. Hofer SB, Bonhoeffer T. Dendritic spines: the stuff that memories are made of? *Curr Biol*. 2010;20:R157–9.
38. Galliano E, Gao Z, Schonewille M, Todorov B, Simons E, Pop AS, et al. Silencing the majority of cerebellar granule cells uncovers their essential role in motor learning and consolidation. *Cell Rep*. 2013;3:1239–51.
39. Gao Z, Proietti-Onori M, Lin Z, Ten Brinke MM, Boele HJ, Potters JW, et al. Excitatory cerebellar nucleocortical circuit provides internal amplification during associative conditioning. *Neuron*. 2016;89:645–57.
40. Schonewille M, Gao Z, Boele HJ, Veloz MF, Amerika WE, Simek AA, et al. Reevaluating the role of LTD in cerebellar motor learning. *Neuron*. 2011;70:43–50.
41. Ackerley R, Pardoe J, Apps R. A novel site of synaptic relay for climbing fibre pathways relaying signals from the motor cortex to the cerebellar cortical C1 zone. *J Physiol*. 2006;576:503–18.
42. Cerminara NL, Aoki H, Loft M, Sugihara I, Apps R. Structural basis of cerebellar microcircuits in the rat. *J Neurosci*. 2013;33:16427–42.