



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

Caracterización de las sinapsis inhibitoras del neostriado en ratas control y en ratas hemiparkinsonianas

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

FIS. JANET BARROSO FLORES

TUTOR PRINCIPAL:

Dr. José Bargas Díaz

Instituto de Fisiología Celular

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dra. Herminia Pasantes Ordóñez

Instituto de Fisiología Celular

Dr. José de Jesús García Valdés

Facultad de Química

México, D.F. Enero, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

Al Fis. Antonio Laville y al Biol. Dagoberto Tapia por el apoyo técnico brindado durante la realización de los experimentos.

A la unidad de cómputo del Instituto de Fisiología Celular

Al bioterio del Instituto de Fisiología Celular

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo prestado para asistir a congresos nacionales, internacionales y estancia realizada en el extranjero.

A Leticia García Gutiérrez

Índice general

Abreviaturas	III
Resumen	VI
Abstract	VIII
1. Introducción	1
1.1. Importancia del Neostriado para los ganglios basales y el sistema motor	1
1.2. Organización neuronal del Neostriado	3
1.2.1. Circuito Feedback	4
1.2.2. Circuito Feedforward	5
1.3. Plasticidad sináptica	7
1.3.1. Tipos de plasticidad de corto plazo (STSP)	8
Depresión de corto plazo	8
Facilitación de corto plazo	9
Plasticidad bifásica de corto plazo	10
1.3.2. STSP como filtros temporales de información	11
1.3.3. Los modelos matemáticos de la STSP más utilizados	13
2. Planteamiento del problema	19
2.1. Hipótesis	20
2.2. Objetivos	20
2.2.1. General	20
2.2.2. Particulares	20
3. Métodos	21
3.1. Animales	21
3.2. Preparación de tejido cerebral	21
3.3. Registros electrofisiológicos	22
3.4. Fármacos	22
3.5. Lesión con 6-Hidroxidopamina (6-OHDA)	23

3.6.	Adquisición de datos y análisis	24
3.6.1.	Determinación de la plasticidad de corto plazo	25
3.6.2.	Curvas Intensidad-Amplitud	26
3.6.3.	Análisis de Varianza- Media	26
3.6.4.	Modelo matemático de plasticidad de corto plazo	27
4.	Resultados	29
4.1.	Diversidad de STSP de sinapsis GABAérgicas sobre SPNs	29
4.2.	La amplitud de las IPSCs y la tasa de reclutamiento sináptico difiere de acuerdo a la plasticidad exhibida	32
4.3.	Diferentes STSP son diferencialmente afectadas por la ausencia de DA	34
4.4.	Los canales de calcio asociados a la liberación de GABA son diferentes de acuerdo a la STSP	38
4.5.	Modelo matemático	40
5.	Conclusiones	45
	Bibliografía	51

Abreviaturas

5-HT3	Receptor de serotonina con subunidad 3a
6-OHDA	6-hidroxidopamina
APV	D-(-)-2-amonio-5-phosphonovalerico
CaV2.1	Canal de calcio dependiente de voltaje tipo 2.1 (<i>canal de calcio tipo P/Q</i>)
CaV2.2	Canal de calcio dependiente de voltaje tipo 2.2 (<i>canal de calcio tipo N</i>)
CB	Calbindina
CCK	Colecistoquinina
CNQX	6-cyano-2,3-dihidroxi-7-nitroquinoxalina 2,3-diona
CR	Calretinina
CV	Coefficiente de variación
DA	Dopamina
EPSC	Corriente post-sináptica excitadora (<i>Excitatory post-synaptic current</i>)
FS	Neurona de disparo rápido (<i>Fast spiking neuron</i>)
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GB	Ganglios basales
GPe	Globo pálido externo
GPi	Globo pálido interno
IPSC	Corriente post-sináptica inhibitoria (<i>inhibitory post-synaptic current</i>)
IR	índice de reclutamiento
LTS	Neurona de disparo de bajo umbral (<i>Low threshold spiking neuron</i>)
LTSP	Plasticidad de largo plazo (<i>Long term synaptic plasticity</i>)
NOS	Óxido nítrico sintasa
NPY	Neuropéptido Y

NPY-NGF	Neurona neurogliforme positiva a neuropéptico Y
NPY-PLTS	Neurona de disparo persistente de bajo umbral positiva a neuropéptico Y
PV	Parvalbúmina
RRP	pool de vesículas listas para librarse (<i>Ready releasable pool</i>)
STB	Plasticidad bifásica de corto plazo
STD	Depresión de corto plazo
STF	Facilitación de corto plazo
Str	Núcleo estriado
STSP	Plasticidad sináptica de corto plazo (<i>Short term synaptic plasticity</i>)
SPN	Neurona espinosa mediana de proyección (<i>spiny neuron</i>)
SNC	Sustancia nigra <i>pars compacta</i>
SNr	Sustancia nigra <i>pars reticulata</i>
SST	Somatostatina

Resumen

El 90-95 % de la población neuronal del estriado (Str) está compuesto por neuronas de proyección (SPNs por sus siglas en inglés: spiny neurons) caracterizadas por tener abundantes espinas dendríticas llamadas neuronas espinosas medianas. Hacen sinapsis entre ellas a través de sus colaterales axónicas, cuya longitud se extiende hasta 100 μm alrededor de la neurona de origen, conformando el circuito inhibitorio de retroalimentación (circuito *feedback*). El 5-10 % restante de la población neuronal está compuesto de diferentes clases de interneuronas, principalmente GABAérgicas, que pueden ser clasificadas por los péptidos que coliberan o por las proteínas que expresan. Las sinapsis entre las interneuronas GABAérgicas y las neuronas de proyección forman el circuito inhibitorio de prealimentación o inhibición proactiva (circuito *feedforward*), dado que la corteza activa a las interneuronas con menor latencia que a las neuronas de proyección mostrando componentes mono y poli sinápticos en las respuestas sinápticas supraumbrales, que incluyen respuestas a glutamato y GABA (Flores-Barrera *et al.* 2010, Vizcarra-Chacón *et al.* 2013). Las interneuronas GABAérgicas poseen axones que se extienden por varios milímetros inervándose entre ellas y a las neuronas de proyección. Ambos circuitos, el circuito *feedback* y el *feedforward*, son altamente inervados por neuronas dopaminérgicas de la Sustancia nigra pars compacta (SNc) y por lo tanto, ambos circuitos son afectados por la pérdida de dopamina (DA), como en la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, no se sabe cómo la pérdida de DA afecta la dinámica de cada tipo de sinapsis del circuito *feedforward*, es decir sinapsis entre interneuronas estriatales y las neuronas de proyección. Para responder esta pregunta se aplicó estimulación de campo intraestriatal a 1 mm de distancia de las neuronas de proyección registradas, para favorecer a las sinapsis entre interneuronas y neuronas de proyección (sinapsis del circuito *feedforward*). Este protocolo distingue funcionalmente entre diferentes clases de sinapsis del circuito *feedforward*, caracterizadas, en este estudio, por su plasticidad de corto plazo. Encontramos al menos tres tipos diferentes de inhibición: sinapsis depresoras, sinapsis facilitadoras y sinapsis bifásicas que presentaron una combinación de facilitación y depresión. Además, se realizaron experimentos para revelar otras características asociadas a la anatomía de los elementos presinápticos. Para estudiar las sinapsis del circuito *feedforward* en un modelo de la enfermedad de Parkinson en roedores, se utilizó la lesión con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) en la SNc. Demostramos, que la falta de DA afecta diferencialmente las sinapsis del circuito *feedforward*: las sinapsis depresoras no se ven afectadas apreciablemente, sin embargo, las sinapsis facilitadoras y las bifásicas se vuelven más fáciles de provocar que en condiciones control además de mostrar corrientes postsinápticas inhibitorias de mayor amplitud siguiendo un aumento en el número de sitios de liberación así como la probabilidad de liberación, respectivamente. Estos resultados apuntan a que son éstas las

sinapsis que toman control del circuito *feedforward* durante el Parkinsonismo. A partir de los resultados experimentales se realizó un modelo matemático que explica las diferencias dinámicas de las plasticidades de corto plazo encontradas y sus posibles cambios debidos a la falta de DA.

Abstract

The majority of striatal (Str) neurons (90-95%) are spiny projection neurons (SPNs) characterized by numerous dendritic spines. SPNs make synapse with each other via their local axon collaterals at distances around $\sim 100 \mu\text{m}$ shaping the feedback inhibitory circuit. The remaining 5-10% of striatal neurons are different classes of interneurons, mainly GABAergic, which can be classified by the peptides they co-liberate or the proteins they express. Synapses between GABAergic interneurons and SPNs shape the feedforward inhibitory circuit since cortex projections activates interneurons with a shorter latency than SPNs, and has been proved that SPNs supraumbraal synaptic responses are by Glutamate and GABA mono and polysynaptic contacts (Flores-Barrera et al., 2010; Vizcarra-Chac3n et al., 2013). Both circuits are highly innervated by dopaminergic neurons from the Substantia Nigra Compacta (SNc) and thus, highly affected by dopamine (DA) loss, as in the Parkinson's disease. However, it is yet unknown how DA loss affects dynamics of each synapse of the feedforward circuit. To assess this question we use field stimulation 1 mm away from the recorded postsynaptic SPNs to favor synapses from the feedforward circuit. This study, shows that field stimulation makes possible to distinguish between different elements of the feedforward circuit, characterized by their short term synaptic plasticity (STSP). We found at least, three different types of inhibition: synapses exhibiting short term synaptic depression (STD), short term synaptic facilitation (STF) and a combination of facilitation followed by a synaptic depression called: short term byphasic plasticity (STB). In addition, Intensity-Amplitude experiments were performed to reveal other features associated to the anatomy of the presynaptic elements. 6-OHDA lesions in SNc were performed to study the feedforward circuit in a model of Parkinson disease. The present study shows that DA loss differentially affects the elements of the feedforward circuit; synapses which exhibit STD weren't affected, while synapses with STF and STB were highly affected increasing the number of release sites and the probability of release, respectively, suggesting that DA was keeping neurotransmitter release in a low rate in control conditions. In DA loss conditions inhibitory postsynaptic currents (IPSC) become easier to evoke than in control conditions, suggesting that this synapses are the ones that take control of the feedforward circuit in Parkinson disease. Based on experimental results, a mathematical model was performed to explain dynamical differences of the short term synaptic plasticities and the possible changes due to DA loss.

1 Introducción

1.1. Importancia del Neostriado para los ganglios basales y el sistema motor

Los mecanismos causantes de las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la alteración de movimientos voluntarios tales como la enfermedad de Parkinson, el síndrome de Tourett, y la enfermedad de Huntington son todavía inciertos. Sin embargo, los pacientes con estos trastornos presentan daños cerebrales en la zona del telencéfalo conocida como “los ganglios basales”(GB). Los ganglios basales son una región implicada con el movimiento y el control de éste. En estos núcleos se “guardan” circuitos que están presentes desde el nacimiento (“centros generadores de pautas” o “central pattern generators”- CPGs) que producen conductas estereotipadas tales como la expresión facial de las emociones, las conductas oculomotoras para preservar el equilibrio, etc. También su red neuronal constituye una matriz para el aprendizaje de procedimientos, esto es, circuitos probablemente del tipo de los ensamblajes Hebbianos (“Hebbian-like Cell Assemblies” o HCA), y creados mediante el aprendizaje, que guardan nuestras conductas aprendidas y nuestros hábitos mediante la formación de circuitos neuronales reforzados por sinapsis. Los ganglios basales están compuestos por los núcleos; neostriado (Str) (formado por los núcleos Caudado, Putamen y Acumbens), la sustancia nigra pars reticulata (SNr), la sustancia nigra pars compacta (SNc), los globos pálido externo e interno (GPe y GPi), y el núcleo subtalámico (STN). Estos núcleos desempeñan un papel importante en la regulación de las funciones motoras, el mantenimiento de la postura, y en particular, la planificación, iniciación y ejecución de los movimientos con un fin u objetivo (Albin *et al.* 1989, Graybiel 2000, Takakusaki *et al.* 2004, DeLong & Wichmann 2007, Obeso *et al.* 2014). El daño en alguno de estos núcleos genera trastornos en los cuales el control del movimiento se ve afectado (las enfermedades mencionadas anteriormente). En la figura 1.1.1 se muestra un esquema de las interconexiones entre los ganglios basales así como de los principales neurotransmisores que participan en sus vías. Entre estas conexiones existe un circuito cerrado formado por: corteza (Ctx) – estriado (Str) - sustancia nigra pars reticulata (SNr) – tálamo – corteza, llamado “la vía directa” la cual tiene un efecto desinhibidor o facilitador sobre las vías

tálamo-corticales encargadas de ejecutar los movimientos. De manera paralela existe otro circuito cerrado: corteza – estriado – globo pálido externo (GPe) – núcleo subtalámico (STN) - sustancia nigra pars reticulata (SNr)– tálamo – corteza, que inhibe las vías tálamo-corticales encargadas de ejecutar los movimientos. Ambas vías se complementan: una activa la secuencia de músculos encargada de un movimiento (músculos agonistas), mientras la otra inhibe a los músculos que estorban dicho movimiento (músculos antagonistas). Cuando se dañan los ganglios basales la manifestación clínica está dada por trastornos del movimiento. Como se observa en la figura 1.1.1, el neostriado recibe aferencias dopaminérgicas de la sustancia nigra compacta. En la enfermedad de Parkinson las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra compacta mueren y por tanto se depleta la dopamina que éstas proveen al neostriado afectando cada sinapsis del microcircuito estriatal.

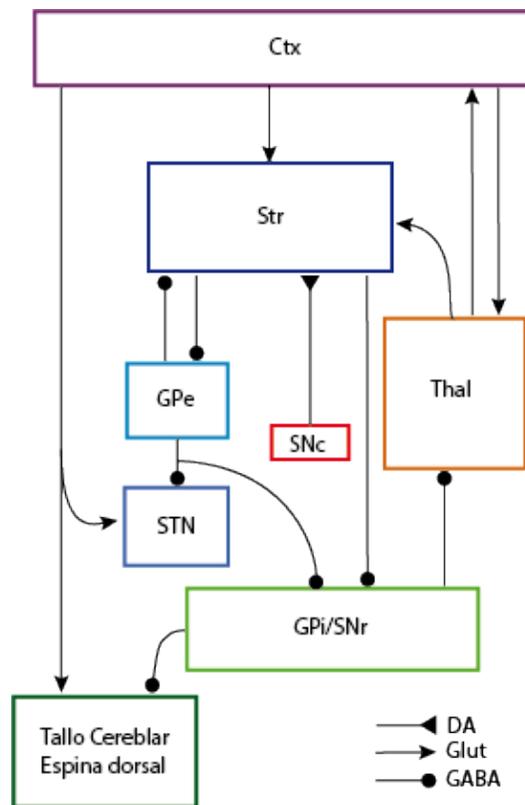


Figura 1.1.1. Interconexiones entre los núcleos del circuito Corteza-Banglios basales-Tálamo-Tallo cerebral.

1.2. Organización neuronal del Neostriado

El neostriado es el núcleo más grande de los ganglios basales y la principal vía de entrada a esos núcleos. Es el centro de refinamiento motor, almacén de información y registro de movimiento. Este núcleo está compuesto tanto de neuronas de proyección (neuronas cuyos axones se conectan colateralmente en el mismo núcleo y que proyectan hacia neuronas de otros núcleos), como de interneuronas (neuronas que no proyectan hacia afuera del núcleo). En roedores, el 90-95 % de la población neuronal del neostriado se compone de las neuronas espinosas medianas de proyección (SPN, por sus siglas en inglés). El otro 10-5 % está compuesto por una variedad de interneuronas, mayoritariamente GABAérgicas, clasificadas por sus propiedades electrofisiológicas (Kawaguchi *et al.* 1995):

- 1) Las neuronas de postpotencial hiperpolarizante de larga duración (LA) (o long-lasting afterhyperpolarization en inglés);
- 2) las neuronas de disparo rápido (FS) (o fast-spiking);
- 3) las neuronas con potenciales de bajo umbral (LTS) (o low-threshold spikes neurons).

Así mismo, es posible clasificar a las interneuronas por los péptidos que liberan y las proteínas que expresan como parvalbúmina (PV), calretinina (CR), somatostatina (SST), neuropéptido Y (NPY), óxido nítrico sintasa (nNOS), tirosina hidroxilasa (TH) y el receptor de serotonina tipo

3, que es un receptor ionotrópico (5-HT_{3a}). Estudios de doble marcado muestran que la mayoría de estas interneuronas coexpresan más de uno de estos marcadores como se muestra en la figura 1.2.1 (tomada de Muñoz-Manchado *et al.* 2014). Sin embargo, dentro de un conjunto de neuronas que expresan un mismo tipo de marcador se encuentran diferencias antómicas y electrofisiológicas, generando subconjuntos dentro de la misma clasificación.

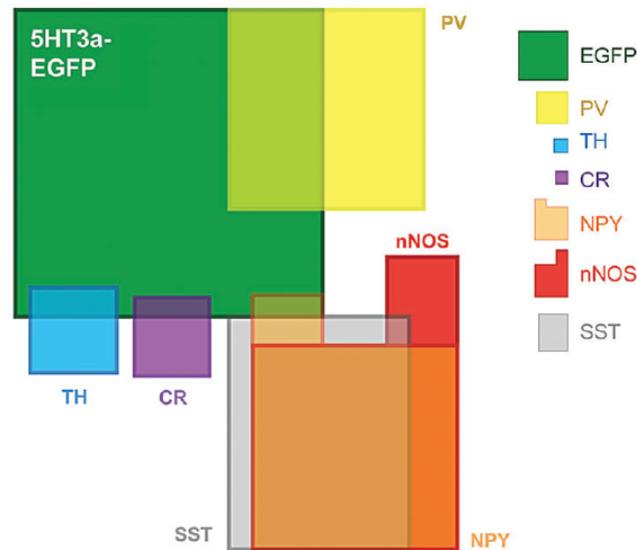


Figura 1.2.1. Diagrama de Venn con la proporción de interneuronas estriatales que colocalizan diversos marcadores moleculares (tomado de Muñoz-Manchado et al. 2014). El tamaño del cuadro es proporcional al porcentaje de la población que una determinada interneurona ocupa. Hay mucha intersección entre los conjuntos FS y 5HT3, así como entre SST, NPY y nNOS. Los demás conjuntos se intersectan poco. Hay muchas LTS en estos últimos conjuntos así como en un tercio de las neuronas que expresan 5HT3.

1.2.1. Circuito Feedback

El soma de las SPNs tiene un diámetro de 12 a 20 μm (figura 1.2.2), del cual surgen de 3 a 6 troncos dendríticos principales, cada uno de los cuales se ramifica en dos procesos, que a su vez se pueden ramificar una o dos veces más, abarcando un volumen esférico de 300-400 μm de diámetro. Las dendritas están densamente cubiertas de espinas que contribuyen con casi la mitad de la superficie total de la célula. La proporción entre la superficie dendrítica y la somática en las neuronas adultas es de 30:1 (Reyes *et al.* 1998). El axón de estas neuronas, antes de salir a sus núcleos blanco, deja una arborización de alrededor de 100-150 μm de radio dentro del estriado haciendo contactos sinápticos con otras SPNs y con algunas interneuronas, aunque éstas no se conocen bien. Estas conexiones entre neuronas espinosas de proyección forman el circuito inhibitorio denominado *feedback* (Czubayko & Plenz 2002, Koos *et al.* 2004, Tecuapetla *et al.* 2005, Taverna *et al.* 2008). Se ha propuesto que este circuito provee de capacidades computacionales al estriado para hacer posible la selección de secuencias motoras mediante la actividad sincrónica de grupos de SPNs (Carrillo-Reid *et al.* 2008). A pesar de que las SPNs comprenden la mayor proporción de neuronas en el estriado, el porcentaje neuronas

interconectadas es muy bajo ($\sim 10\text{-}15\%$) y se reduce prácticamente a 0% cuando las neuronas registradas están alejadas más de $100\ \mu\text{m}$. En la enfermedad de Parkinson, cuando se pierde la aferencia dopaminérgica, la inhibición feedback se ve alterada, reduciéndose las conexiones entre SPNs (Taverna *et al.* 2008, López-Huerta *et al.* 2012; 2013), así como la actividad secuencial entre ensambles de neuronas de proyección co-activas (Jáidar *et al.* 2010, Carrillo-Reid *et al.* 2011, López-Huerta *et al.* 2013).

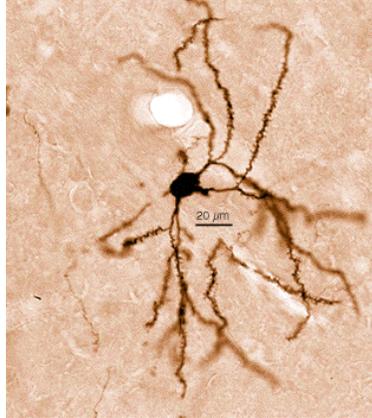


Figura 1.2.2. Neurona espinosa neoestriatal de rata adulta. Tomada de Tepper *et al.* 1998.

1.2.2. Circuito Feedforward

La conexión entre las diversas interneuronas GABAérgicas y las SPN forman el circuito *feedforward*. Este circuito ejerce la mayor y más eficaz inhibición sobre las SPNs; modula la salida de información del estriado a través de la inhibición del circuito feedback. De todas las interneuronas de este circuito, la sinapsis más estudiada es la sinapsis entre las neuronas FS y las SPNs. Las interneuronas FS, positivas a PV (PV+) son neuronas tipo canasta, denominadas así debido a que su axón se ramifica densamente alrededor del soma en una vecindad hasta varios milímetros de longitud (figura 1.2.3) haciendo contacto sinápticos perisomáticos y sobre las dendritas proximales de las SPNs, por lo que registros de pares de neuronas entre interneuronas FS y SPNs muestran que un sólo potencial provocado en una neurona FS es capaz de retrasar o prevenir los potenciales de acción de la SPN. Una sólo FS puede inervar hasta 400 SPNs (Koos *et al.* 2004, Tepper & Bolam 2004a, Tepper *et al.* 2004; 2008). Además, esta sinapsis ha sido caracterizada por la plasticidad de corto plazo que presenta. Trenes de potenciales de acción en las neuronas FS presinápticas muestran que las corrientes postsinápticas inhibitoras (IPSCs) registradas en el soma de las neuronas SPNs disminuyen de tamaño con cada disparo, esto es, presentan depresión de corto plazo (STD)(Tecuapetla *et al.* 2005; 2007a; 2009). Esto es,

la probabilidad de disparo de las neuronas FS es alta, presenta pocas fallas, pero se deprime después de unos cuantos disparos hasta mantener una liberación estable.

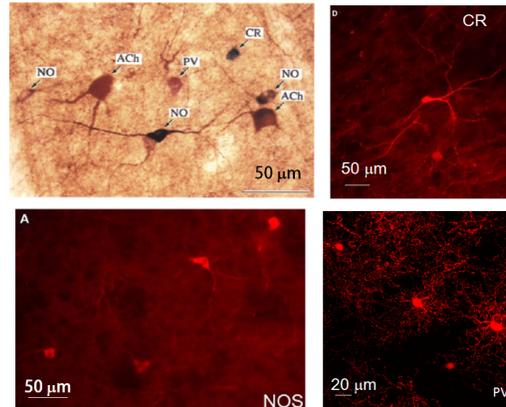


Figura 1.2.3. Anatomía de diversas interneuronas estriatales caracterizadas por las proteínas que expresan: óxido nítrico sintasa(NOS), parvalbúmina(PV), calretinina(CR) y acetilcolina (Ach). Tomada de Kawawuchi et al. 1995 y Tepper et al. 2010.

Las interneuronas que exhiben disparo de bajo umbral (LTS) comprenden a las neuronas que expresan SST, nNOS y/o NPY aunque se ha demostrado recientemente que algunas de las neuronas llamadas neurogliformes expresan NPY y no muestran disparo característico de tipo LTS. Estas interneuronas hacen contactos sinápticos sobre las dendritas distales de las SPNs, regulando así la entrada glutamatergica de la Ctx sobre las SPNs. El árbol axónico de estas neuronas es escaso y se extiende en un radio de hasta varios milímetros hacia cualquier dirección en una esfera que lo comprende. Por lo que los registros de pares de estas interneuronas resultan muy complicados de realizar ya que el axón de las LTS no ramifica como el de las FS (figura 1.2.3); al grado que se ha dudado de que exista conexión entre ellas (Gittis & Kreitzer 2012). La sinapsis de este tipo de interneuronas, también se ha estudiado en la Ctx, sobre las neuronas piramidales, que como guardan una relación vertical o en columna, se han podido registrar los pares. En los pares registrados se ha observado que la amplitud de las IPSCs aumenta con cada potencial de acción presináptico, esto es, muestra facilitación de corto plazo (STF)(Beierlein *et al.* 2003a). La sinapsis entre los demás tipos de interneuronas estriatales sobre las SPNs no ha sido caracterizada debido a la dificultad de obtener registros de pares entre interneuronas y las SPNs. En este trabajo favorecemos la sinapsis del circuito feedforward mediante la estimulación de campo intraestriatal a 1 mm de la SPN registrada, tomando en cuenta que el circuito feedback sólo conecta espinosas cercanas en un radio $\sim 100 \mu\text{m}$, para observar si podíamos observar plasticidad sináptica de tipo facilitador (STF) como evidencia funcional de

que las neuronas LTS hacen sinapsis sobre las SPNs formando parte del circuito feedforward.

En la Ctx y en el hipocampo se ha visto que algunos tipos de interneuronas de clase LTS pueden tener una plasticidad bifásica (STB) (Wang *et al.* 2006, Savanthrapadian *et al.* 2014).

1.3. Plasticidad sináptica

La plasticidad sináptica es un proceso por el cual la eficacia sináptica cambia en función del tiempo y como resultado de la actividad previa de la sinapsis. La eficacia sináptica puede verse como la habilidad que tiene una terminal presináptica para liberar su neurotransmisor (NT) y provocar un evento postsináptico en la neurona postsináptica. La eficacia cambia dinámicamente durante la liberación del neurotransmisor y al cambiar como función del tiempo da lugar a la plasticidad sináptica, la cual puede estudiarse a diferentes escalas temporales.

Cambios de milisegundos a minutos son considerados como plasticidad de corto plazo (*STSP* por sus siglas en inglés: *Short Term Synaptic Plasticity*) (Zucker & Regehr 2002). Cambios de docenas de minutos hasta horas o más se consideran como plasticidad de largo plazo (*LTSP* por sus siglas en inglés: *Long Term Synaptic Plasticity*) (Morris 2003). En el presente estudio nos enfocaremos en el estudio de la plasticidad de corto plazo como característica funcional propia de los distintos tipos de sinapsis inhibitoras sobre las SPNs estriatales.

La llegada de un potencial de acción a la terminal presináptica abre canales de Ca^{2+} aumentando la concentración intracelular de calcio en la terminal, principalmente cerca de la zona donde se encuentran las vesículas listas para liberarse (*RRP* por sus siglas en inglés: *Readily Releasable Pool*). Este evento, provoca la liberación del neurotransmisor (Katz & Miledi 1968). El neurotransmisor liberado se une a receptores postsinápticos generando una respuesta eléctrica en la neurona postsináptica llamada potencial postsináptico. Si se realizan registros electrofisiológicos, con la técnica de fijación de voltaje, los eventos postsinápticos se ven como corrientes postsinápticas las cuales pueden ser excitadoras (corrientes postsinápticas excitadoras o *EPSCs* por sus siglas en inglés: *Excitatory postsynaptic currents*) o inhibitoras (corrientes postsinápticas inhibitoras o *IPSCs* por sus siglas en inglés: *Inhibitory postsynaptic currents*). El potencial excitador producido por las EPSCs tienden a acercar el potencial de membrana al umbral de disparo de los potenciales de acción. En contraste, los potenciales inhibitoras alejan el potencial de membrana del umbral o cambian la conductancia de la neurona para evitar el disparo de potenciales de acción. La llegada de varios potenciales de acción a la terminal sináptica en un periodo corto de tiempo (frecuencias fisiológicas alrededor de 10-50 Hz) aumentan la concentración de calcio intracelular de una manera no lineal. Como resultado, la liberación del neurotransmisor se ve aumentada o disminuída como función del tiempo en

diferentes terminales presinápticas o, dependiendo del contexto, en la misma terminal (Bollmann & Sakmann 2005, Tecuapetla *et al.* 2007a, Dutta Roy *et al.* 2014). Existen diversos factores que alteran la dinámica de liberación como, por ejemplo, el tipo de neurona postsináptica, la presencia de moduladores como dopamina (DA) o acetilcolina (ACh) que modifican la eficacia sináptica (Guzmán *et al.* 2003, Tecuapetla *et al.* 2007a, Dehorter *et al.* 2009, Mansvelder *et al.* 2009), proteínas queladoras de calcio como la parvalbúmina (PV) o la calbindina (CB) las que modifican la dinámica de la concentración de calcio dentro de la terminal presináptica (Mochida *et al.* 2008), el reciclaje vesicular incluyendo la endocitosis mediada por clatrina (Granseth *et al.* 2006, Kavalali 2007, López-Murcia *et al.* 2014), entre otros varios factores que hacen la plasticidad sináptica un proceso dinámico.

1.3.1. Tipos de plasticidad de corto plazo (STSP)

Depresión de corto plazo

Después de un tren de estímulos presinápticos, la eficacia sináptica de algunas sinapsis tiende a disminuir en unos cuantos milisegundos o segundos. A este proceso se le denomina depresión de corto plazo (*STD* por sus siglas en inglés: *Short Term Depression*) (figura 1.3.1A).

Funcionalmente, la depresión de corto plazo se ha ligado a la habituación y a la adaptación sensorial (Fisher 1997, O'Donovan 1997, Zucker & Regehr 2002). Existen múltiples mecanismos que pueden explicar la depresión sináptica. Uno de ellos es el agotamiento de las vesículas listas para liberarse en el RRP (Del Castillo & Katz 1954), la fracción de vesículas luego de cada potencial de acción decae progresivamente disminuyendo la eficacia sináptica con el tiempo, por lo que el estímulo debe parar para reponer el número original de vesículas del RRP. La frecuencia del estímulo también contribuye a la depresión sináptica: estímulos a altas frecuencias llevan a un agotamiento más rápido de las vesículas en el RRP mientras que el mecanismo de recuperación y llenado vesicular se encuentra saturado. Además de éste, existen otros mecanismos que pudieran explicar la depresión sináptica como la disminución de la entrada de Ca^{2+} debido a la inactivación de los canales de Ca^{2+} (Forsythe *et al.* 1998, Xu & Wu 2005). Otro mecanismo podría ser a través de moduladores retrógrados, por ejemplo, los endocannabinoides liberados por la terminal postsináptica (Freund TF 2002, Freund *et al.* 2003, Fukudome *et al.* 2004, Uchigashima *et al.* 2007, Ohno-Shosaku & Kano 2014). En extremo, algunas sinapsis provenientes de la misma neurona presináptica exhiben facilitación de corto plazo sobre una neurona postsináptica y depresión de corto plazo sobre otra. (Markram *et al.* 1998a, Thomson *et al.* 2002a;b) dependiendo de la concentración de calcio local y de los mensajeros retrógrados sobre la terminal presináptica. Sin embargo, cuando el fluido

extracelular se mantiene constante, así como las neuronas postsinápticas y los estímulos se dan en un rango fisiológico, se ha observado que la STSP caracteriza funcionalmente el tipo de sinapsis que se trate, único entre neurona pre- y postsináptica, como una huella característica (Gupta *et al.* 2000, Beierlein *et al.* 2003b, Wang *et al.* 2006, Tecuapetla *et al.* 2007a, Blackman *et al.* 2013, Savanthrapadian *et al.* 2014, Sedlacek & Brenowitz 2014). Es por esto que es común encontrar que las neuronas *basket cells* o FS exhiban una depresión de corto plazo muy característica en diferentes núcleos cerebrales (Tecuapetla *et al.* 2007a, Gittis *et al.* 2010, Planert *et al.* 2010, Massi *et al.* 2012) como las fibras trepadoras sobre las neuronas de Purkinje del cerebello (Dittman *et al.* 2000, Ohtsuki *et al.* 2009), o las sinapsis entre espinosas medianas (Hoffman *et al.* 2003, Tecuapetla *et al.* 2007a) y varias sinapsis en el núcleo coclear del sistema auditivo (MacLeod *et al.* 2007, Wang *et al.* 2011, MacLeod 2011).

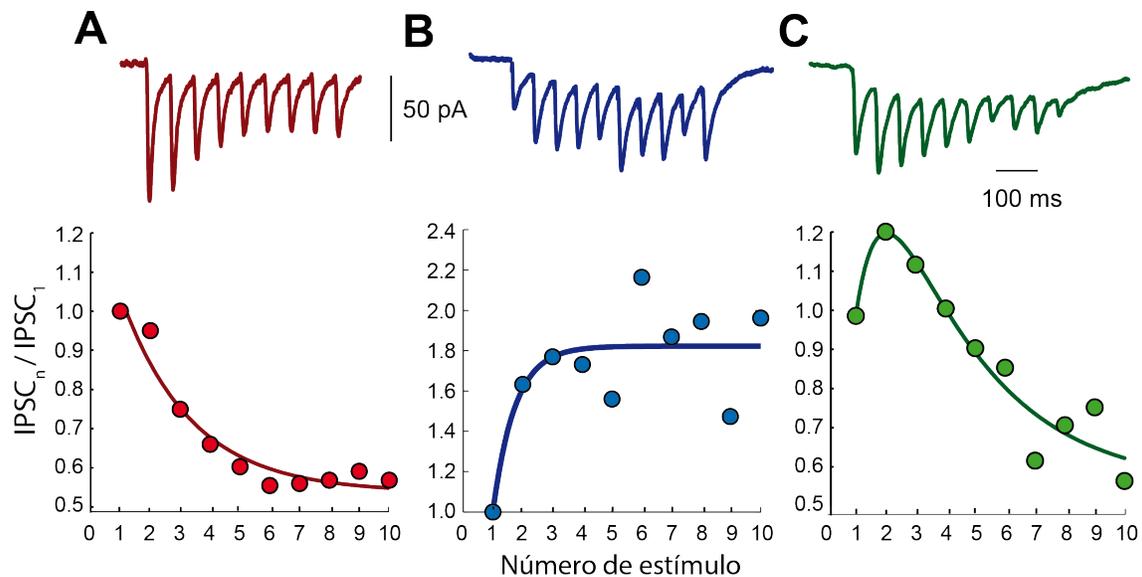


Figura 1.3.1. Diferentes tipos de plasticidad de corto plazo registradas en neuronas estriatales de proyección siendo postsinápticas a estímulos de aferentes inhibitoras. A) Ejemplo de una sinapsis con depresión de corto plazo (STD) B) Ejemplo de una sinapsis con facilitación de corto plazo (STF). C) Ejemplo de una sinapsis con plasticidad bifásica de corto plazo (STB).

Facilitación de corto plazo

La facilitación de corto plazo (*STF* por sus siglas en inglés: *Short Term Facilitation*) ocurre cuando la eficacia sináptica incrementa con el tiempo de uso de la sinapsis e involucra varios procesos independientes de la expresión de proteínas (1.3.1B). Uno de los correlatos funcionales

de la STF es la sensibilización: proceso en el cual varios estímulos o potenciales de acción conllevan a un aumento progresivo en la respuesta (Marinesco *et al.* 2004, Fulton *et al.* 2008, Nikolaev *et al.* 2013). Existen diferentes tipos de facilitación, las cuales se clasifican, principalmente, por la escala de tiempo en la que ocurren y que indirectamente involucran diferentes procesos fisiológicos. Un tipo de facilitación, se denomina *synaptic enhancement*, el cual ocurre en dos fases; el primero dura decenas de milisegundos, seguido de una fase lenta que dura cientos de milisegundos. En una escala temporal más grande, el aumento dura varios segundos y se da lo que se denomina *potenciación postetánica* (PPT) la cual puede durar de 30 segundos hasta varios minutos (Zucker & Regehr 2002). El proceso de facilitación puede ser explicado por diversos mecanismos presinápticos. Haciendo análisis cuántico de la liberación se ha revelado que el aumento sináptico se debe a un incremento en la probabilidad de liberación (P) y/o a un aumento del número de sitios de liberación (N) (Clements & Silver 2000, Clements 2003). Así mismo, la teoría de calcio residual ha propuesto que la acumulación de calcio en la terminal presináptica tras un potencial de acción, aumenta la cantidad de neurotransmisor liberado durante los subsecuentes potenciales de acción, si éstos ocurren lo suficientemente cercanos en el tiempo (Katz & Miledi 1968, Van der Kloot & Molgo 1993, Ravin *et al.* 1999). Es importante destacar, que el amortiguamiento de calcio reduce la facilitación (Regehr *et al.* 1994, Stevens & Wesseling 1999, Salin & Scanziani 1996), sin embargo, algunas sinapsis tienen la habilidad de reponer rápidamente el RRP (Trommershäuser *et al.* 2003, Neher 2010, Watanabe *et al.* 2013), como por ejemplo: la sinapsis entre las fibras paralelas sobre las células de Purkinje (Dittman *et al.* 2000), o las interneuronas que expresan colecistoquinina (CCK), o somatostatina (SST) en el hipocampo (Blackman *et al.* 2013, Savanthrapadian *et al.* 2014), la sinapsis entre las piramidales corticales sobre las interneuronas de disparo de bajo umbral (LTS) en la neocorteza (Thomson *et al.* 1993, Markram *et al.* 1998a, Reyes *et al.* 1998, Beierlein *et al.* 2003b, Hayut *et al.* 2011), la sinapsis entre las colaterales de Schaffer sobre las interneuronas que expresan SST (Sun *et al.* 2009), la sinapsis entre las neuronas espinosas estriatales con otros núcleos de los ganglios basales (Sims *et al.* 2008, Miguelez *et al.* 2012, Hernández-Martínez *et al.* 2015), etc.

Plasticidad bifásica de corto plazo

Durante un tren de potenciales de acción, algunas sinapsis experimentan una combinación de facilitación seguida de una depresión la cual se denomina plasticidad bifásica (Markram *et al.* 1998a, Wang *et al.* 2006, Savanthrapadian *et al.* 2014) (1.3.1C). Éste es el caso de las interneuronas que expresan SST en el hipocampo (Savanthrapadian *et al.* 2014). Los mecanismos subyacentes a este tipo de plasticidad no han sido suficientemente estudiados, sin embargo, se han propuesto mecanismos básicos a través de modelos matemáticos (Tsodyks & H

1997a, Hennig 2013a). Diversos microcircuitos capaces de mostrar múltiples estados revelan que éstos corresponden a diversas funciones (Traub *et al.*, Klausberger & Somogyi, Carrillo-Reid *et al.*, Kopell *et al.*). Esta capacidad multifuncional puede ser explicada por la combinación de las dinámicas de las plasticidades mencionadas anteriormente junto con las propiedades intrínsecas de las neuronas involucradas sujetas a diversos moduladores, como la dopamina.

1.3.2. STSP como filtros temporales de información

Como se ha señalado, existen diversas clases de sinapsis cuyo comportamiento en el tiempo varía. Uno de los papeles de estas sinapsis es el mediar la respuesta postsináptica dada por los potenciales de acción de la neurona presináptica. Por lo tanto, una de las hipótesis más fuerte es que las sinapsis actúan como filtros eléctricos temporales (Buonomano 2000, Fortune & Rose 2000, Dittman *et al.* 2000, Zucker & Regehr 2002, Abbott & Regehr 2004, Wang *et al.* 2006, George *et al.* 2011). Experimentos donde se obtienen la magnitud de los eventos sinápticos (ganancia), normalizada con respecto a la amplitud del primer estímulo, inducida por un tren de estímulos y se grafican contra la frecuencia de estos estímulos se observa que cada tipo de plasticidad sináptica descrita, funciona como un filtro eléctrico de frecuencias (Diagramas de Bode) (Markram *et al.* 1998b, Dittman *et al.* 2000, Izhikevich *et al.* 2003).

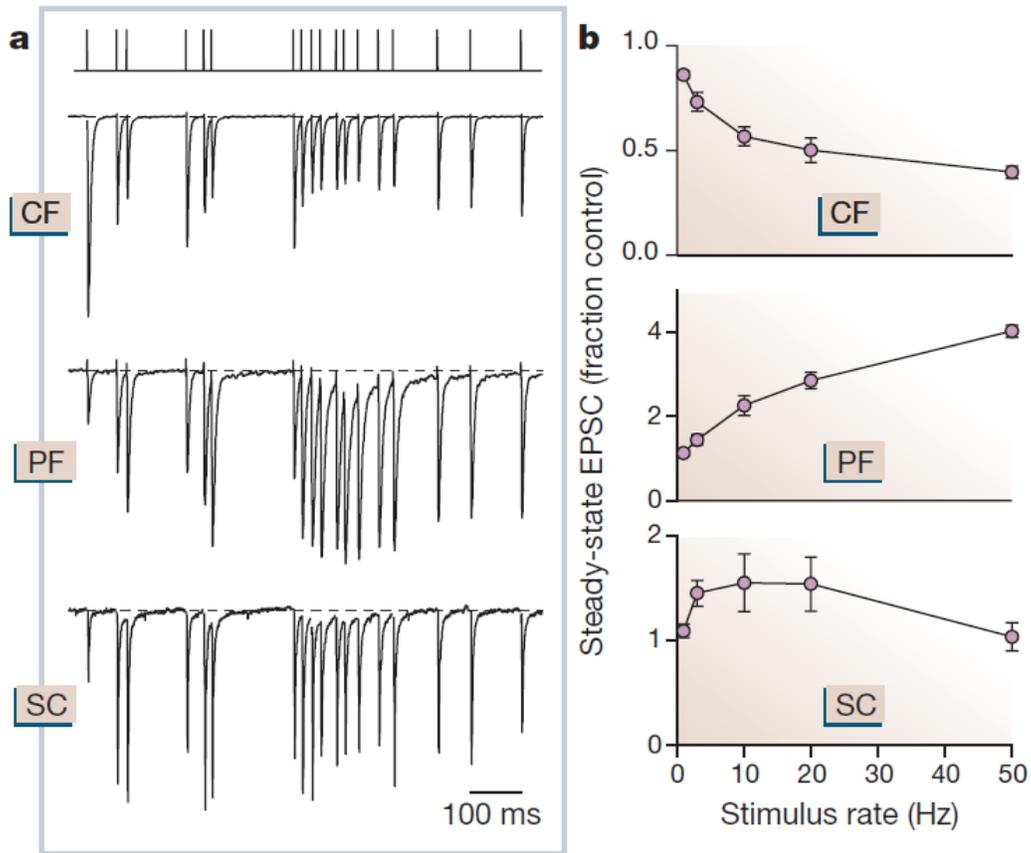


Figura 1.3.2. STSP como filtros eléctricos. a) Ejemplos de corrientes postsinápticas excitadoras (EPSCs) en respuesta a estímulos irregulares con una tasa promedio de 20Hz, registradas en las sinapsis entre las fibras trepadoras y las células de Purkinje (CF: trazo superior), fibras trepadoras sobre las células de Purkinje (PF: trazo en medio) y entre las colaterales de Schaffer entre CA3 y CA1 del hipocampo (SC: trazo inferior). b) Diagramas de Bode: magnitud promedio de 8-10 EPSC de un tren regular, normalizado con respecto al primer EPSC y graficado en función de la frecuencia del estímulo. Note que los diferentes tipos de plasticidad de corto plazo responden mejor a distintas frecuencias: actúan como diferentes filtros eléctricos (tomado de Abbott & Regehr 2004).

En general, las sinapsis que muestran una depresión de corto plazo actúan como filtros pasa-bajos (trazo superior); las sinapsis que exhiben una facilitación de corto plazo actúan como filtros pasa altos (trazo medio) y las sinapsis que presentan plasticidad bifásica de corto plazo actúan como filtros pasa bandas (trazo inferior) (Markram *et al.* 1998b, Dittman *et al.* 2000, Fortune & Rose 2000, Wu *et al.* 2001, Izhikevich *et al.* 2003, Abbott & Regehr 2004, Lange-Asschenfeldt *et al.* 2007). Esto es, la función sináptica, no está limitada a excitar o

inhibir: el filtrado temporal es una función importante que puede corresponder a diferentes procesos tales como la adaptación, detección espacial, detección temporal y generación de ritmos (Wang & Buzsaki 1996, Whittington & Traub 2003, Sirota *et al.* 2008, Cardin *et al.* 2009). Los filtros pasa bandas de las sinapsis bifásicas podrían estar sincronizando ensambles neuronales en la banda β (13-30 Hz), la cual es la principal banda de frecuencias observada en sujetos control, pero que se vuelve exagerada durante la enfermedad de Parkinson (Hammond *et al.* 2007, te Woerd *et al.* 2014). Los filtros pasa bajos (sinapsis depresoras) ayudan a la habituación sensorial; se observa una mayor eficacia en la respuesta al inicio de un tren a baja frecuencia (Abbott & Regehr 2004). Se ha propuesto que las sinapsis depresoras producen una transmisión más fiel ante nuevos estímulos lo cual podría subyacer a un mecanismo que remueva correlaciones redundantes, haciendo el flujo de información más eficiente (Goldman *et al.* 2002). Dado el funcionamiento de filtraje que realizan las sinapsis, ha crecido el interés de incorporar la STSP a los modelos matemáticos que simulan circuitos neuronales.

1.3.3. Los modelos matemáticos de la STSP más utilizados

A pesar que las neuronas postsinápticas también contribuyen a la plasticidad sináptica (desensibilización del receptor, mensajeros retrógrados, etc), los procesos que se llevan a cabo en la presinapsis, incluyendo la dinámica de liberación del neurotransmisor y la reposición del RRP, se consideran los mecanismos más importantes para determinar el tipo de plasticidad sináptica. Cada uno de estos procesos depende de diferentes factores como los canales de calcio que utiliza la terminal para liberar el NT, bombas, enzimas y reciclaje vesicular entre otros ((Trommershäuser *et al.* 2003, Neher 2010, Dutta Roy *et al.* 2014)). Idealmente, los modelos matemáticos tratan de agrupar la mayor cantidad de estos factores en el menor número posible de variables.

Existen modelos matemáticos de la liberación del neurotransmisor basados en datos experimentales tratando de explicar y predecir los aspectos biofísicos y conductuales de la transmisión sináptica a diferentes niveles de detalle. En particular, se ha hecho un gran esfuerzo al modelar la plasticidad de corto plazo en los que se incluya el reclutamiento vesicular y el ensamblaje de la maquinaria de liberación (Trommershäuser *et al.* 2003, Pan & Zucker 2009, Neher 2010), la preparación de las vesículas para liberarse (priming), la fusión vesicular (Magleby & Zengel 1982, Taschenberger *et al.* 2005, Millar *et al.* 2005) y la endocitosis (Balaji & Ryan 2007, Granseth & Lagnado 2008).

La principal variable en los modelos matemáticos de plasticidad sináptica es la cantidad de neurotransmisor liberada $NT(t)$ detectada por los receptores postsinápticos. La liberación del NT depende del número de vesículas disponible para ser liberadas en cierto tiempo $N(t)$ y de la

probabilidad de liberación de estas vesículas $p(t)$:

$$NT(t) = N(t) \cdot p(t) \quad (1.3.1)$$

Asumiendo que el NT liberado es detectado por los receptores postsinápticos de manera instantánea la conductancia postsináptica, $g(t)$, se puede asumir proporcional a la cantidad de NT liberado:

$$g(t) = \bar{g} \cdot NT(t) \quad (1.3.2)$$

donde, \bar{g} es la conductancia máxima de la neurona postsináptica. Por simplicidad, \bar{g} se considera una constante, sin embargo, para modelar el proceso de desensibilización sináptica, \bar{g} se considera como una función que depende de la cantidad de NT ($g(t) \rightarrow 0$).

Uno de los modelos clásicos, desarrollado por Liley & North 1953 explica la depresión de corto plazo mediante el agotamiento vesicular durante la estimulación tetánica de la placa neuromuscular en ratas. Este proceso se describió después con una ecuación diferencial, no autónoma, de primer orden:

$$\frac{dn(t)}{dt} = \frac{1 - n(t)}{\tau_r} - \sum \delta(t - t_i) \cdot p \cdot n(t) \quad (1.3.3)$$

donde $n(t)$ es la proporción de ocupación del RRP. La primera parte de la ecuación 1.3.3 corresponde al recambio vesicular **total** del RRP con una constante de tiempo de τ_r . La segunda parte de la ecuación corresponde a la liberación instantánea de neurotransmisor asumiendo la llegada de un potencial de acción al tiempo t .

Este modelo, ajusta bien un gran número de sinapsis depresoras con una variedad de constantes de tiempo (Liley & North 1953, Tsodyks & H 1997b). Note que la probabilidad de liberación y recambio vesicular son parte de la misma ecuación.

Un modelo más detallado, creado por Tsodyks & H 1997b, que toma en cuenta la dinámica presináptica, caracteriza la conexión sináptica describiendo la proporción de recursos en tres estados activos, respectivamente: estado efectivo (**E**), estado inactivo (**I**) y estado recuperado (**R**), como sigue:

$$\begin{aligned}
 \frac{dR(t)}{dt} &= \frac{I}{\tau_{Rec}} - U_{SE} \cdot R \cdot \delta(t - t_{AP}) \\
 \frac{dE(t)}{dt} &= -\frac{E}{\tau_{Inact}} + U_{SE} \cdot R \cdot \delta(t - t_{AP}) \\
 I &= 1 - R - E
 \end{aligned}
 \tag{1.3.4}$$

La llegada de un potencial de acción a la terminal al tiempo t_{AP} activa, instantáneamente una fracción de recursos disponibles en el estado efectivo, limitada por el factor U_{SE} (Parámetro de utilización de la eficacia sináptica), la cual se inactiva rápidamente (estado inactivo) con una constante de tiempo τ_{inact} , luego los recursos pasan al estado recuperado con una constante de tiempo τ_{Rec} . Nuevamente, este modelo sólo permite la modelación de sinapsis depresoras. Para modelar sinapsis facilitadoras se incluyó más tarde (Markram *et al.* 1998b) un mecanismo facilitador. Así, la depresión y facilitación de corto plazo se puede aproximar con dos variables independientes; R y u , respectivamente, como sigue:

$$\begin{aligned}
 \frac{dR}{dt} &= \frac{1-R}{D} - R \cdot u \cdot \delta(t - t_i) \\
 \frac{du}{dt} &= \frac{U-u}{F} + U \cdot (1 - u) \cdot \delta(t - t_i)
 \end{aligned}
 \tag{1.3.5}$$

La primera ecuación del sistema 1.3.5 modela la recuperación exponencial al valor $R=1$ con una constante de tiempo D^{-1} ; menos la liberación instantánea del NT, tomando en cuenta la llegada de potenciales de acción a los tiempos t_i . La segunda ecuación del sistema 1.3.5, corresponde al aumento de la liberación después del i ésimo estímulo. De igual manera, se modela como la recuperación exponencial de u a su valor estacionario U (eficacia sináptica durante el primer potencial de acción).

Este modelo explica la cinética de una gran variedad de sinapsis (Markram *et al.* 1998b, Gupta *et al.* 2000, Izhikevich *et al.* 2003) y reproduce los diagramas de Bode de las sinapsis facilitadoras y depresoras, mostrándolas como filtros pasa altos y pasa bajos, respectivamente. Es por ello que este modelo ha resultado de la mayor importancia. Sin embargo, los patrones bifásicos de algunas sinapsis no pueden reproducirse con este modelo.

Un modelo, todavía más detallado, aunque no tan famoso y utilizado como el de Markram *et al.* 1998b, es el propuesto por Dittman *et al.* 2000. Este modelo, además de usar dos variables dinámicas: facilitación y depresión refractoria, enfatiza el papel del calcio residual (Ca_{res}). Un EPSC se modela como sigue:

$$EPSC = \alpha \cdot N_T \cdot F \cdot D \quad (1.3.6)$$

Donde, N_T es el número de sitios de liberación y la fracción de sitios que liberaron se divide en dos partes: sitios que muestran facilitación (F) y sitios que muestran depresión (D). α es un factor de escala de la magnitud de los EPSCs miniatura (mEPSC).

En este modelo, el aumento en la liberación $F(t)$ toma un valor inicial F_1 y está mediado por una molécula unida a calcio CaX_F cuya constante de disociación es K_F con la siguiente dinámica:

$$F(t) = \frac{1}{1 + \frac{K_F}{CaX_F(t)}} \quad (1.3.7)$$

donde CaX_F se modela con una cinética de primer orden con una constante de tiempo τ_F después de un aumento de tamaño Δ_F durante la llegada de un potencial de acción al tiempo t_i :

$$\frac{dCaX_F}{dt} = -\frac{CaX_F}{\tau_F} + \Delta_F \cdot \delta(t - t_i) \quad (1.3.8)$$

Si se permite que CaX_F llegue a cero, entonces se agrega una corrección a la ecuación 1.3.7 que tome en cuenta como probabilidad de liberación basal a F_1 cuando $CaX_F = 0$, quedando entonces

$$F(t) = F_1 + \frac{1 - F_1}{1 + \frac{K_F}{CaX_F(t)}}$$

Ahora $F(t)$ va de F_1 a 1 conforme CaX_F aumenta desde 0. Después de la llegada de un potencial de acción, CaX_F aumenta a ΔF y $F(t)$ aumenta a:

$$F_2 = F_1 + \frac{1 - F_1}{1 + \frac{K_F}{\Delta F}} \quad (1.3.9)$$

Si un segundo estímulo llega antes de que se hubiera alcanzado la recuperación total del estado refractario, el segundo EPSC estará determinado tanto por el aumento en la probabilidad F_2 y el resto del número de sitios como sigue:

$$EPSC_2 = \alpha \cdot N_T \cdot (1 - D_1 \cdot F_1) \cdot F_2 \quad (1.3.10)$$

Dado que $F_2 \leq 1$, la probabilidad inicial de liberación tiene la siguiente cota superior:

$$F_1 \leq \frac{1}{1 + \rho}$$

donde ρ corresponde a la relación de facilitación

$$\rho = \frac{EPSC_2}{EPSC_1} = \frac{(1 - F_1) \cdot F_2}{F_1} \quad (1.3.11)$$

Por otro lado, el proceso de depresión en este modelo queda determinado por una dependencia de calcio, similar a la presentada anteriormente para el proceso de facilitación, donde CaX_D representa la concentración de una molécula unida a calcio con τ_D como constante de decaimiento. Este mecanismo de depresión toma en cuenta tres estados activos: R, estado refractario; T, estado transitorio y N, sitios listos para liberar. El número total de sitios de liberación queda determinado como:

$$N_T = R + T + N \quad (1.3.12)$$

En un modo similar al mencionado anteriormente para la facilitación, la tasa de recuperación se relaciona con la ocupación de equilibrio del sitio de liberación dado por CaX_D con constante de tiempo τ_D la cual aumenta, instantáneamente, a Δ_D con la llegada de un potencial de acción al tiempo t_i :

$$\frac{dCaX_D}{dt} = -\frac{CaX_D}{\tau_D} + \Delta_D \cdot \delta(t - t_i) \quad (1.3.13)$$

La probabilidad de liberación, para este proceso, se describe con la variable de depresión

$D = N/N_T$ (número de sitios disponibles/ número total de sitios) como sigue:

$$\frac{dD}{dt} = (1 - D(t) \cdot k_{recov}(CaX_D) - D(t)) \cdot F(t) \cdot \delta(t - t_i) \quad (1.3.14)$$

donde

$$k_{recov}(CaX_D) = \frac{k_{max} - k_i}{1 - \frac{K_D}{CaX_D(t)}} + k_i$$

Después del primer potencial de acción los sitios $N_T F_1$ y $N_T D_1$ han liberado el neurotransmisor y pasan al estado refractario, dejando $N_T(1 - F_1 D_1)$ sitios disponibles para liberar. Entonces

$$D_2 = 1 - F_1 \cdot D_1 \tag{1.3.15}$$

Por simplicidad, $D_1 = 1$ si todos los sitios están disponibles para liberar. Por lo tanto, la ecuación 1.3.15 puede escribirse como $D_2 = 1 - F_1$.

Este modelo, captura un gran espectro de dinámicas sinápticas que dan lugar a diferentes plasticidades de corto plazo, incluyendo dinámicas resultantes de trenes de estímulos a frecuencias irregulares (Dittman *et al.* 2000). Sin embargo, uno de los objetivos para hacer modelado, es el que varios fenómenos fisiológicos sean agrupados en el mínimo número de variables, el cual se pierde en este caso.

Es por esta razón que en la presente Tesis proponemos un nuevo modelo de STSP de dos variables que generaliza las ideas previamente descritas. Este modelo lo probamos en las sinapsis GABAérgicas que hacen contacto con las neuronas estriatales de proyección. Las dos variables dinámicas son: la ocupación del RRP por las vesículas sinápticas: $x(t)$, y la probabilidad de liberación: $p(t)$. Con ello, recuperamos la idea del mínimo número de variables en un modelo que reproduce todas las dinámicas de corto plazo: sinapsis depresoras, facilitadoras y bifásicas.

2 Planteamiento del problema

Los efectos de la pérdida de dopamina se han estudiado en el circuito *feedback* (Taverna *et al.* 2008, Surmeier *et al.* 2009, López-Huerta *et al.* 2012; 2013), sin embargo, poco se sabe sobre cómo la dopamina afecta cada sinapsis del circuito *feedforward* y el papel funcional que desempeña cada uno de los tipos de interneuronas presentes en el microcircuito estriatal. Estudios previos han realizado registros de pares que han podido caracterizar la conexión entre las interneuronas FS y SPN, junto con su plasticidad de corto plazo (Tecuapetla *et al.* 2007a), sin embargo, el registro de pares entre las diversas interneuronas estriatales con las SPN es difícil de obtener, al grado que se ha dudado de su conexión (Gittis & Kreitzer 2012, Ibanez-Sandoval *et al.* 2011). En el presente estudio se plantearon las siguientes preguntas: ¿Será posible distinguir diferentes entradas inhibitoras sobre las SPN caracterizadas a partir de su plasticidad de corto plazo? y si es el caso, ¿estas entradas inhibitoras se ven afectadas de igual manera en la ausencia de DA, como en la enfermedad de Parkinson? Para responder estas preguntas favorecimos la activación de interneuronas estriatales mediante la estimulación intraestriatal de campo a 1mm de la neurona SPN registrada en condiciones fisiológicas y en un modelo de roedor de la enfermedad de Parkinson (6-OHDA).

2.1. Hipótesis

1. Es posible distinguir diferentes entradas inhibitoras en las neuronas espinosas y caracterizarlas mediante su plasticidad de corto plazo.
2. La ausencia de dopamina afecta de manera diferencial las entradas inhibitoras en las SPNs.

2.2. Objetivos

2.2.1. General

Encontrar las diferencias entre la inhibición producida por las diferentes entradas GABAérgicas sobre las neuronas de proyección SPN condiciones control y en un modelo de la enfermedad de Parkinson

2.2.2. Particulares

1. Caracterizar la plasticidad de corto plazo de las diferentes entradas inhibitoras que reciben las neuronas de proyección SPN.
2. Clasificar las entradas inhibitoras a partir de los canales de calcio tipo CaV2.1(tipo P/Q) y CaV2.2 (tipo N) que utilizan para la liberación de GABA.
3. Obtener las curvas intensidad-amplitud de las entradas inhibitoras previamente caracterizadas por su (STSP).
4. Realizar un modelo matemático que describa la dinámica de las diferentes sinapsis y los parámetros que se alteran en la ausencia de dopamina.

3 Métodos

3.1. Animales

Los experimentos de esta tesis se realizaron mayoritariamente en ratas macho Wistar de 14-16 días de edad provenientes del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Los animales se mantuvieron en un ciclo normal de luz/oscuridad (12/12 horas) a temperatura ambiente (22-24°C) con acceso libre a agua y alimento. Los procedimientos, en su totalidad, se efectuaron conforme a lo establecido por la Comisión de Cuidado Animal del Instituto de Fisiología Celular (CICUAL-EGP41-14) y por ende, por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) con respecto al uso de animales de laboratorio. El número de animales fue el mínimo para obtener significancia estadística.

Los experimentos de registro de pares de neuronas se realizaron en ratones homocigotos B6.FVB-Tg(Npy-hrGFP)1Low1/J (BAC-GFP NPY+) adultos de 2 meses de edad proporcionados por el Rutgers University Institutional Animal Care and Use Comittee.

3.2. Preparación de tejido cerebral

Los animales, previamente anestesiados con ketamina/xylazina (85:15) vía intraperitoneal, fueron perfundidos intracardialmente con una solución salina helada (4°C) saturada con O₂/CO₂ (95:5) que contiene (en mM): 225 Sacarosa, 7KCl, 28 NaHCO₃, 0.5 CaCl₂, 10 glucosa, 1 ácido ascórbico y 3 piruvato; pH = 7.2. El cerebro se removió inmediatamente retirando las porciones de cerebelo y bulbo olfatorio, la porción restante se hemidisecó y cada hemisferio se colocó sobre la cámara de un vibratomo (PELCO 101, Ted Pella Inc.), sumergido en la misma solución, para obtener rebanadas parasagitales de 250 µm de grosor. Dichas rebanadas se estabilizaron durante una hora, previa a los registros, en una solución artificial semejante al líquido cefalorraquídeo (LCA) saturada permanentemente con O₂/CO₂ (95:5) que contiene (en mM): 126 NaCl, 3 KCl, 25 NaHCO₃, 1 MgCl₂, 2 CaCl₂, 10 glucosa; pH= 7.4; 298 mOsm/L la cual fue utilizada mediante un sistema de perfusión durante los registros electrofisiológicos y fue administrada a una velocidad de 3ml/min.

3.3. Registros electrofisiológicos

Las rebanadas se observaron con un sistema de video-microscopia de iluminación infrarroja utilizando un objetivo de inmersión de 10X para identificar el estriado y 40X para la identificación de las neuronas registradas. Se hicieron registros patch clamp en la configuración de célula entera. La caracterización de las neuronas mediante su disparo característico se realizó en la modalidad de fijación de corriente mientras que los registros de corrientes sinápticas se realizaron en la modalidad de fijación de voltaje, utilizando micropipetas de borosilicato hechas en un estirador de pipetas horizontal (P-87, Sutter Instruments Co.) con una resistencia de 3-6 M Ω para el registro, las cuales fueron llenadas con una solución interna compuesta de (en mM): 72KH₂PO₄, 36KCl, 2 MgCl₂, 10 HEPES, 1.1 EGTA, 0.2 Na₂ATP, 0.2 Na₃GTP, 5 QX-314 and 0.5 % biocitina (pH=7.2, 275MOsm/l) Dando una concentración interna de Cl⁻ de 40mM, mientras que la concentración extracelular fue de 135 mM para un potencial de equilibrio de cloro en 0mV, suficiente para ver las corrientes de cloro como corrientes entrantes a un potencial de -80mV. La estimulación intraestriatal de campo se hizo con un microelectrodo bipolar concéntrico de tungsteno (12.5 ó 25 μ m, 50 \pm 8 k Ω resistencia DC) (FHC, Bowdoinham, ME) a 1 mm de distancia de la neurona espinosa registrada para obtener la transmisión preferentemente de interneuronas. Se aplicaron trenes de 10 pulsos a 20hz (intervalos interestímulo de 50ms, 0.2-0.5 de duración y 1-90V de amplitud) con una frecuencia de 0.1 Hz para generar el protocolo de plasticidad de corto plazo. Las células registradas fueron neuronas espinosas medianas caracterizadas por sus propiedades electrofisiológicas reportadas para espinosas medianas (Hernández-López *et al.* 1997; 2000).

Los registros de pares de interneuronas NPY+ con neuronas espinosas medianas se realizaron en el *Laboratory for Basal Ganglia Research* en el *Center for Molecular and Behavioral Neuroscience* de la Universidad de Rutgers (Newark College of Arts and Sciences) a cargo del Dr. James Tepper. Las soluciones utilizadas en estos experimentos están descritas en Ibanez-Sandoval *et al.* 2011.

3.4. Fármacos

Los reactivos se administraron a las neuronas mediante el sistema de perfusión esperando mínimo 10 minutos o 10 ml de la perfusión antes de realizar los registros. Este tiempo es suficiente para que se produzca el efecto farmacológico deseado en las células registradas. Todos los fármacos fueron preparados en soluciones stock y se añadieron al medio de perfusión para alcanzar la concentración final adecuada.

Para obtener la transmisión GABAérgica sobre las neuronas espinosas, se bloqueó la

transmisión glutamatérgica con CNQX (6-cyano-2,3-dihidroxi-7-nitroquinoxalina 2,3-diona, antagonista a los receptores AMPA/Kainato) a una concentración final de $50\mu\text{M}$ y con APV (D-(-)-2-amonio-5-phosphonovalérico, antagonista de los receptores NMDA) a una concentración final de $10\mu\text{M}$. Para determinar el canal de calcio responsable de la liberación de GABA se utilizó una toxina específica, bloqueadora de los canales de calcio CaV2.2 (ω -Conotoxina GVIA) a una concentración de $1\mu\text{M}$. Bicuculina para corroborar la naturaleza GABAérgica de las corrientes postsinápticas obtenidas.

3.5. Lesión con 6-Hidroxidopamina (6-OHDA)

El modelo de la enfermedad de Parkinson se obtuvo mediante la lesión unilateral con 6-OHDA (Ungerstedt 1968). Se utilizaron ratas Wistar de 13-16 días postnatales o ratones BAC-TH-GFP de 21 días postnatales. Los animales se anestesiaron con un coctel de Ketamina/Xilazina (85:15 mg/kg) administrada intraperitonealmente. Mediante un sistema estereotáxico se ubicaron las coordenadas de la Sustancia Nigra Pars compacta (SNc) a partir de Bregma: 3.8 mm anteroposterior, 1.8 mm medio-lateral y 7.1 mm dorsoventral para la lesión en ratas y 2.5 mm anteroposterior, 0.7 mm medio-lateral y 4.5 mm dorsoventral para los ratones transgénicos. La administración de 6-OHDA se realizó mediante una cánula, inyectando $0.3\mu\text{l}$ ($8\mu\text{g/ml}$) disuelta en solución salina isotónica con 0.03% de ácido ascórbico a una velocidad de $0.1\mu\text{l/min}$. Una vez inyectada la 6-OHDA, la jeringa se dejó reposar 10 minutos para maximizar la difusión del líquido y retención del tejido.

La evaluación de la lesión se hizo mediante la prueba de giro 7 días después de la lesión. Las ratas se pusieron en unos rotómetros donde se realizó la prueba. Después de unos minutos de aclimatación, se les inyectó anfetamina (4 mg/ml) intraperitoneal a las ratas. Debido al desbalance de terminales dopaminérgicas entre los hemisferios del animal lesionado, la anfetamina tiene un efecto desbalanceado en el cerebro el cual se manifiesta con giros mayoritariamente ipsilaterales al hemisferio lesionado. Se contaron los giros completos por 90 minutos. Los animales que mostraran ≥ 500 giros ipsilaterales con un desbalance del 90% fueron considerados como lesionados exitosamente. Los registros electrofisiológicos en estos animales se realizaron de 3 a 5 días después de la evaluación.

Algunos de los animales lesionados se utilizaron para verificar de manera anatómica el grado de la lesión haciendo inmunohistoquímica contra la enzima tirosina hidroxilasa (TH). Una semana después de la prueba de giro, las ratas se perfundieron transcardialmente con fijador compuesto de paraformaldehído al 4% y ácido pícrico al 1% en buffer salino de fosfatos (PBS, pH=7.4). Se obtuvieron rebanadas coronales de $40\mu\text{m}$ y se incubaron con albúmina bovina al 1% para

bloquear sitios inespecíficos de unión y un anticuerpo primario policlonal de conejo contra TH (1:500 Millipore) disuelto en PBS con 0.25 % TritónX, durante 36 hrs. Se hicieron tres lavados con PBS incubado con un anticuerpo secundario de cabra contra conejo durante 1 hr. Este anticuerpo se conjugó con FITC (FI-1000, Vector Laboratories, Burlingame, CA). Las muestras se montaron con Vectashield y se observaron en un microscopio confocal Olympus FV- 1000. Se obtuvieron 388 imágenes XY (320 x 320 pixeles) utilizando una platina motorizada con un objetivo de inmersión de 20X, estimulando con un láser de 488 nm de longitud de onda. El análisis de las imágenes fue realizado utilizando el software Fluo View 1000.

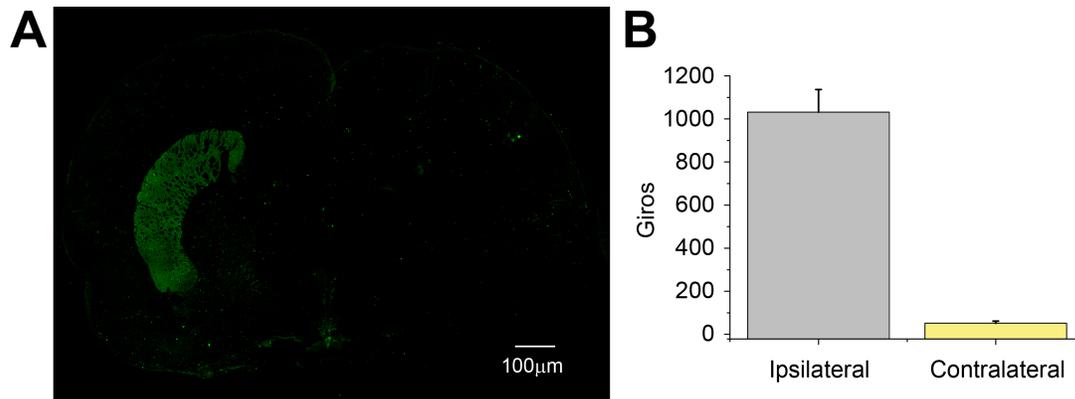


Figura 3.5.1. Modelo de la enfermedad de Parkinson con 6-OHDA. A) Rebanada coronal de rata lesionada. El hemisferio izquierdo muestra inmunoreactividad a TH, mientras que el otro hemisferio, el hemisferio lesionado, está vacío de fibras de TH. B) Histograma que muestra los giros ipsilaterales y contralaterales a la lesión después de la inyección de amfetamina.

3.6. Adquisición de datos y análisis

La resistencia de acceso fue monitoreada continuamente con un pulso hiperpolarizante en el soma. Las células que mostraron un cambio de resistencia mayor al 25 % fueron descartadas para el análisis. Los registros se filtraron a 1-3 kHz y digitalizados con una tarjeta ATMIO-16E10 (National Instruments, Austin TX) DAQ (NI-DAQ). El programa de adquisición de datos online que se utilizó fue hecho en ambiente Labview (National Instruments). El análisis offline se hizo en software comercial, (Origin v.7. Microcal, NA y MATLAB).

3.6.1. Determinación de la plasticidad de corto plazo

Para favorecer la transmisión GABAérgica preferentemente de interneuronas se estimuló intraestriatalmente a 1mm de la neurona de registro, pues los axones de las interneuronas se extienden a estas distancias mientras que las conexiones entre las NEM es casi imposible hallarlas cuando nos alejamos más de 100 μm . Las entradas excitatorias de la corteza y del tálamo se eliminaron con la aplicación de CNQX (antagonista a los receptores AMPA/Kainato) y APV (antagonista a los receptores NMDA) a una concentración de 10 y 50 μM , respectivamente.

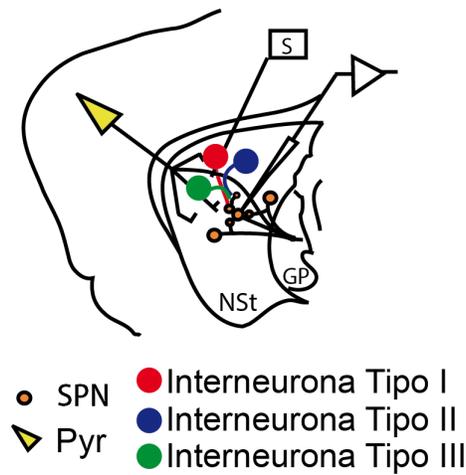


Figura 3.6.1. Protocolo de estimulación intraestriatal que favorece la activación de interneuronas (Guzmán *et al.* 2003)

El protocolo de plasticidad de corto plazo se utilizó para la caracterización de las maquinarias de liberación de las neuronas presinápticas, ya que bajo las mismas condiciones de estimulación, temperatura, neuronas postsinápticas, y ambiente iónico, cada neurona presináptica exhibe una plasticidad de corto plazo distintiva (Hennig 2013b, Dutta Roy *et al.* 2014, Ma *et al.* 2012, Savanthrapadian *et al.* 2014), por lo que las diferencias observadas sugieren la activación de diferentes neuronas presinápticas ((Reyes *et al.* 1998, Gupta *et al.* 2000, Beierlein *et al.* 2003b, Silberberg *et al.* 2005, Wang *et al.* 2006, Ma *et al.* 2012, Blackman *et al.* 2013, Savanthrapadian *et al.* 2014)). Para el protocolo de plasticidad de corto plazo se aplicó un tren de 10 pulsos a 20 Hz y se registraron las corrientes GABAérgicas postsinápticas sobre una neurona SPN. La magnitud de las corrientes postsinápticas registradas se midió desde la línea basal al pico, para cada una de las corrientes obtenidas en el tren ($\text{IPSC}_1\text{-IPSC}_{10}$).

Para determinar el tipo de STSP se graficaron las respuestas sinápticas normalizadas con la

amplitud de la primer respuesta $\left(\frac{\text{Amplitud } IPSC_n}{\text{Amplitude } IPSC_1} \right)$ y ajustadas con una multiplicación de exponenciales, después de la normalización con la siguiente ecuación:

$$\frac{IPSC_n}{IPSC_1} = \left(A - e^{-x/\tau_{Rec}} \right) \left(e^{-x/\tau_{Dep}} + B \right) + C \quad (3.6.1)$$

Donde la primer parte de la ecuación corresponde al proceso de recuperación de la máquina de liberación y el segundo término corresponde al proceso depletador. La plasticidad de corto plazo depende de ambos procesos ya que ambos coexisten en la terminal al mismo tiempo (Hennig 2013b). El parámetro A representa el estado estacionario al cual el proceso de recuperación tiende a llegar. El parámetro B representa el valor inicial del proceso de depleción y C es un parámetro constante utilizado para que el ajuste (Levenberg-Marquardt) de la plasticidad empiece en 1. Los parámetros τ_{Rec} y τ_{Dep} corresponden a las constantes de tiempo del proceso de recuperación (por ejemplo, llenado vesicular) y del proceso de depleción, respectivamente.

3.6.2. Curvas Intensidad-Amplitud

La corriente al pico de las IPSCs en función de la intensidad de los estímulos se ajustó con la siguiente ecuación:

$$A(I) = \frac{A_{max}}{1 + e^{(-k(I-i_h))}} \quad (3.6.2)$$

Donde A_{max} representa la amplitud máxima evocada de las IPSCs, I es la intensidad del estímulo normalizada en unidades umbral, I_h es la intensidad del estímulo que evoca la mitad de la amplitud máxima obtenida y k describe la pendiente de subida de la curva (proporcional al número de terminales reclutadas como función del estímulo). Este análisis nos permite evaluar la magnitud de la inhibición sobre las SPN además de sugerir el tipo de arborización de los axones reclutados.

3.6.3. Análisis de Varianza- Media

El cálculo de los parámetros cuánticos de liberación que nos ayudan a caracterizar las sinapsis, se realizaron con el análisis de varianza-media (Variance Mean Analysis: V-M). De 20-25 trazos individuales se usaron para realizar el análisis V-M, graficando la varianza al pico de cada IPSC contra su amplitud media, lo que teóricamente se ajusta a una parábola negativa:

$$V(A) = A\bar{x} - B\bar{x}^2 \quad (3.6.3)$$

donde V es la varianza de las IPSCs y \bar{x} es la amplitud media de las mismas IPSCs. A y B son parámetros de ajuste. El parámetro A indica la pendiente inicial de la parábola directamente relacionado con la amplitud del cuanto de liberación. El parámetro B , que regula la anchura de la parábola está directamente relacionado con la probabilidad de liberación y el inverso de B con el número de sitios de liberación.

El valor promedio de la amplitud del cuanto (Q_w) está dado por:

$$Q_w = \frac{A}{1 + CV^2} \quad (3.6.4)$$

donde CV es el coeficiente de variación de las amplitudes de las IPSCs. La probabilidad de liberación fue calculada por la siguiente ecuación:

$$P_w = \frac{B}{A}x(1 + CV^2) \quad (3.6.5)$$

y el mínimo número de sitios de liberación está dado por:

$$N = \frac{1}{B} \quad (3.6.6)$$

Los subíndices w indican los valores promediados de toda la sinapsis, es decir, algunos de los sitios de liberación pueden liberar más o menos vesículas que los sitios vecinos. De igual manera, la probabilidad de liberación de sitio a sitio puede cambiar, por lo que el promedio nos dirá lo que pasa, en general, con el grueso de los sitios de liberación.

3.6.4. Modelo matemático de plasticidad de corto plazo

Proponemos un modelo computacional que reproduce las diferentes dinámicas de plasticidad encontradas experimentalmente. El modelo consiste en dos variables dinámicas que comprenden varios de los mecanismos involucrados en la liberación del neurotransmisor: ocupación de las vesículas listas para liberarse ($x(t)$), y la probabilidad de liberar éstas vesículas ($p(t)$).

Asumiendo que una neurona presináptica dispara potenciales de acción a tiempos t_k , $k =$

0,1,2,3..., la dinámica de liberación de la terminal presináptica puede describirse por el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned}\frac{dx(t)}{dt} &= x \frac{x_{\infty} - x(t)}{\tau_{Rec}} - px \sum \phi(t - t_k), \\ \frac{dp(t)}{dt} &= p \frac{p_{\infty} - p(t)}{\tau_{Dep}} + (1 - p) \sum q(h_k) \phi(t - t_k),\end{aligned}\tag{3.6.7}$$

donde

$$\phi(t, \tau_{\phi}, A) = A \frac{t}{\tau_{\phi}} e^{(1-t/\tau_{\phi})}\tag{3.6.8}$$

simula la forma del pulso en la terminal presináptica. Por simplicidad, usamos $A = 1$, $\phi_k = 1$ y $q(h) = \bar{q} h e^{1-h/\tau_{Dep}}$. Los parámetros x_{∞} y p_{∞} representan los estados estacionarios de la ocupación de vesículas listas para liberarse y la probabilidad de liberación, respectivamente. τ_{Rec} y τ_{Dep} representan las constantes de tiempo de recuperación y depleción, respectivamente. La función $q(h)$ representa un aumento en $p(t)$, el cual depende de los intervalos entre estímulos de los potenciales de acción (h). \bar{q} representa el máximo aumento en la probabilidad de liberación. Para este trabajo, utilizamos trenes a 20 Hz con intervalos regulares entre los estímulos. Las simulaciones se realizaron en Python (<https://www.python.org/>) utilizando los módulos `scipy` (<http://scipy.org>) y `matplotlib` (<http://matplotlib.org>).

4 Resultados

4.1. Diversidad de STSP de sinapsis GABAérgicas sobre SPNs

La estimulación intraestriatal de campo se realizó a 1 mm de distancia de la SPN registrada (ver Métodos) ya que la inhibición entre SPN está restringida en alrededor 100 μm . Las neuronas espinosas se identificaron por sus respuestas características de potenciales de acción a inyecciones de corriente intracelular (4.1.1A), mostrando una característica rectificación entrante y una latencia para disparar el primer potencial de acción. Se realizaron curvas I-V para corroborar el registro de una SPN. (4.1.1B).

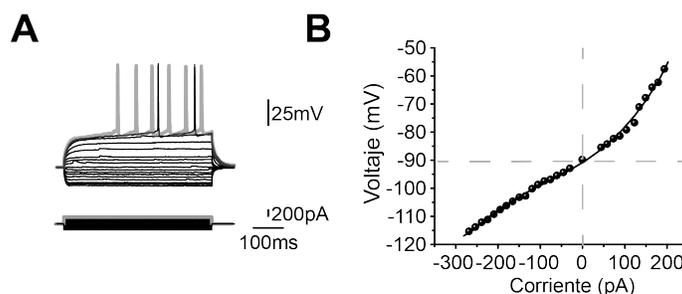


Figura 4.1.1. Identificación de las SPNs mediante su respuesta electrofisiológica característica.

Las corrientes postsinápticas inhibitoras (IPSCs) se evocaron en las SPN con la estimulación de campo intraestriatal dando de 20 a 25 trenes de 10 pulsos de estimulación a 20 Hz cada 10 segundos (0.1 Hz) en presencia de receptores glutamatérgicos (10 μm de CNQX y 50 μm de APV). Esta estimulación reveló la presencia de tres plasticidades diferentes: sinapsis depresoras (STD; figura 4.1.2A, trazo rojo; $n = 6$), sinapsis facilitadoras (STF; figura 4.1.2A, trazo azul; $n = 6$) y sinapsis que presentan una combinación de facilitación y depresión denominadas sinapsis bifásicas (STB; figura 4.1.2A, trazo verde, $n = 6$). Los trazos a colores representan el promedio de la respuesta promedio de experimentos representativos. Los trazos grises representan las respuestas individuales e ilustran la variabilidad cuántica intrínseca de las IPSCs evocadas a los

20-25 trenes de estimulación. Es de notar que tanto las sinapsis facilitadoras como las bifásicas exhiben fallas al evocar IPSCs (figura 4.1.2A), sugiriendo que los elementos presinápticos tienen una baja probabilidad inicial de liberación en comparación con la sinapsis depresora que no muestra fallas al evocar los IPSCs sugiriendo una alta probabilidad inicial de liberación. Trabajos previos (Czubayko & Plenz 2002, Guzmán *et al.* 2003, Koos *et al.* 2004, Tecuapetla *et al.* 2007a, Taverna *et al.* 2008, López-Huerta *et al.* 2012; 2013) han demostrado que la plasticidad de corto plazo de la sinapsis entre SPNs es depresora con una tasa de depresión mayor a la plasticidad de corto plazo de la sinapsis entre FS-SPN (figura 4.1.2A, trazo amarillo). La plasticidad obtenida entre SPNs se realizó a través de estimulación antidrómica desde el GPe, registrando una SPN del estriado. Se sabe que la estimulación antidrómica desde el GPe favorece la sinapsis entre SPNs. La figura 4.1.2A, muestra que la dinámica de corto plazo entre SPNs (amarillo) difiere de las dinámicas obtenidas con la estimulación intraestriatal. La sinapsis depresora, encontrada estimulando intraestriatalmente (figura 4.1.2A, trazo rojo) no fue significativamente diferente a la reportada previamente a la conexión entre FS-SPN registrada bajo las mismas condiciones farmacológicas (Tecuapetla *et al.* 2007a).

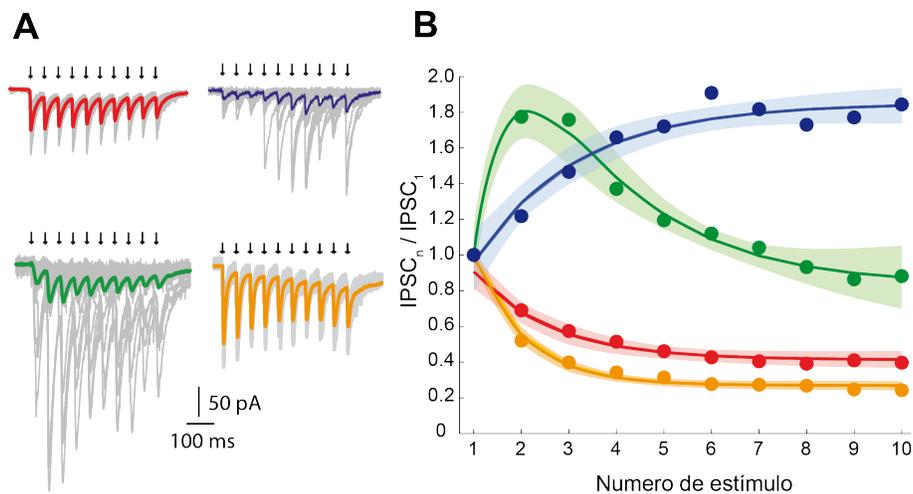


Figura 4.1.2. Plasticidad de corto plazo de las diferentes entradas inhibitorias sobre SPNs.

Dado que existen diversos tipos neuronales GABAérgicos en el estriado (Tepper *et al.* 2004, Tepper & Bolam 2004b, Tepper *et al.* 2008, Ibanez-Sandoval *et al.* 2010, Tepper *et al.* 2010, Ibanez-Sandoval *et al.* 2011, Muñoz-Manchado *et al.* 2014, Beatty *et al.* 2015) y cada una podría exhibir diferente tipo de plasticidad sináptica sobre las SPNs, se realizaron caracterizaciones cuantitativas de las muestras que mostraron la misma STSP normalizada al primer estímulo: STD, STF y STB y se ajustaron con la ecuación 3.6.1 (ver Métodos) (4.1.2B;

promedios en trazos de color y errores de estimación en sombras). Este procedimiento distingue claramente entre las tres clases de dinámicas obtenidas. Los valores cuantitativos de las diferencias cualitativas se muestran en la tabla 4.1.3. Las dinámicas evocadas para cada plasticidad fue robusta, sugiriendo que existen diferentes sinapsis inhibitoras cuya dinámica de plasticidad de corto plazo es diferente entre sí. Nótese de la tabla 4.1.3 que para las sinapsis depresoras, la constante de tiempo de recuperación es 6 veces más lenta que la constante de tiempo de depleción, (τ_{Rec} de STD vs. τ_{Dep} de STD; $p < 0.05$. prueba Friedman con prueba de Dunn como prueba post hoc) lo que explica porqué, en estas sinapsis, el proceso de depresión es el proceso dominante. En contraste, en las sinapsis facilitadoras el proceso de recuperación es dominante a pesar de que la constante de tiempo de recuperación es casi el doble de la constante de depleción (τ_{Rec} de STF vs. τ_{Dep} de STF; $p > 0.05$. prueba Friedman con prueba de Dunn como prueba post hoc), sin embargo, el valor estacionario del proceso de depleción en las sinapsis facilitadoras es mucho mayor que el valor estacionario de depleción de las sinapsis depresoras (nótese el signo de los parámetros B en ambas sinapsis, 4.1.3) resultando dominante el proceso de facilitación. En las sinapsis bifásicas, el proceso de depleción fue aproximadamente 50 % más lento (τ_{Rec} de STB vs. τ_{Dep} de STB; $p < 0.05$. prueba Friedman con prueba de Dunn como prueba post hoc), por lo que, después de la facilitación inicial, la depresión fue dominante dando la característica bifásica de facilitación y depresión. En resumen, en las sinapsis facilitadoras y las bifásicas, el proceso de depleción vesicular tiende a ser más lento que en las sinapsis depresoras mientras que la probabilidad inicial de liberación es mayor en las sinapsis depresoras. Dados estos resultados, sería muy improbable que una misma clase de elemento presináptico posea todos estos diferentes mecanismos sobre el mismo tipo de elemento postsináptico, bajo las mismas condiciones. Sin embargo, vinculamos otros experimentos para distinguir las diferentes entradas GABAérgicas sobre las SPNs.

	Sinapsis Depresoras		Sinapsis Facilitadoras		Sinapsis Bifásicas	
	Control	6-OHDA	Control	6-OHDA	Control	6-OHDA
A	1.15 ± 0.17	1.41 ± 0.27	2.57 ± 0.5	3.09 ± 1	4.4 ± 0.7	1.9 ± 0.68
τ_{Rec} (ms)	107.7 ± 37	120.2 ± 44	53.6 ± 15.2	158.2 ± 28.3	62 ± 10.9	70 ± 20
τ_{Dep} (ms)	17.2 ± 8.24	39.3 ± 24	29.3 ± 7.6	37.7 ± 17.2	96 ± 5.8	161 ± 38
B	-0.5 ± 0.16	-0.23 ± 0.26	2.4 ± 0.62	4.7 ± 1.6	3.2 ± 0.8	0.41 ± 0.5
C	0.92 ± 0.14	0.35 ± 0.6	-4.4 ± 2.8	-18 ± 12	-13.2 ± 5.3	-2 ± 2

Figura 4.1.3. Parámetros de la ecuación de ajuste de las STSP : $IPSC_n/IPSC_1 = (A - e^{x/-\tau_{Rec}}) * (e^{x/-\tau_{Dep}} - B) + C$ sobre el promedio ± el error de estimación.

4.2. La amplitud de las IPSCs y la tasa de reclutamiento sináptico difiere de acuerdo a la plasticidad exhibida

Se hicieron experimentos Intensidad-Amplitud sobre las sinapsis previamente caracterizadas por su plasticidad de corto plazo. Primero, se determinó el mínimo estímulo que produce un IPSC sobre una SPN. Este estímulo se estableció como la intensidad umbral para normalizar las demás respuestas. La intensidad del estímulo se aumentó gradualmente, medido en intensidades umbrales, evocando corrientes postsinápticas con mayores amplitudes. La relación obtenida entre la amplitud de las IPSCs y la intensidad del estímulo se ajustó con la ecuación 3.6.2 (ver Métodos) donde A_{max} denota la amplitud máxima de los IPSCs, I_h denota la intensidad que evoca la mitad de la máxima respuesta y k es la pendiente de la sigmoide proporcional al reclutamiento de los sitios de liberación en función de la intensidad del estímulo.

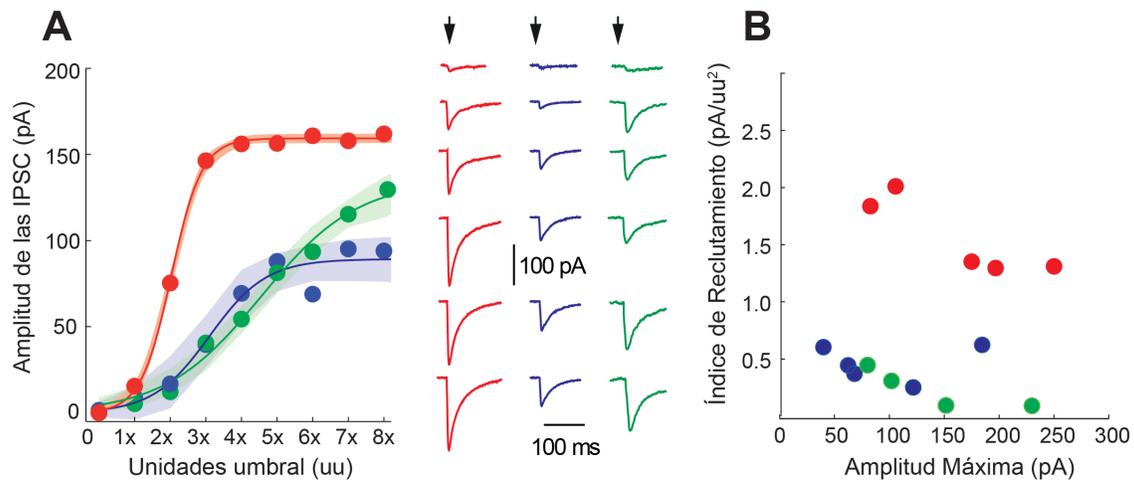


Figura 4.2.1. Relación Intensidad-Amplitud.

Debido a la variabilidad cuántica de las sinapsis, se ajustó la ecuación 3.6.2 al promedio de cada muestra clasificada por su STSP (Figura 4.2.1A). Los errores de estimación del ajuste se ilustran sombreados alrededor del promedio. Las sinapsis que mostraron diferentes tipos de plasticidad de corto plazo mostraron también diferentes relaciones IA. Las sinapsis depresoras alcanzaron una corriente de saturación más rápido que las sinapsis facilitadoras y las bifásicas ($k_{STD} > k_{STF}$, $k_{STD} > k_{STB}$; $p < 0.05$. Kruskal-Wallis con prueba de Dunn como prueba post hoc) mientras que el factor de reclutamiento entre las sinapsis bifásicas y las sinapsis facilitadoras fue más lento y no hubo diferencia significativa entre ellas ($p > 0.05$. Kruskal-Wallis con prueba de Dunn como prueba post hoc) (Figura 4.2.1A ; Tabla 4.2.2) El índice de reclutamiento se definió

como la relación entre el factor de reclutamiento (k) y el estímulo necesario para obtener la mitad de la máxima amplitud (I_h) $IR = k/I_h$ y se graficó contra la amplitud máxima evocada. (Figura 4.2.1B). Las sinapsis facilitadoras y bifásicas tuvieron un $IR < 1$, mientras que las sinapsis depresoras un $IR > 1$ ($p < 0.5$ entre las STD y las STF) (Tabla 4.2.2). De acuerdo con evidencia previa (Koos *et al.* 2004, Tecuapetla *et al.* 2007a, Tepper *et al.* 2010), las sinapsis depresoras podrían corresponder a la sinapsis entre interneuronas positivas a parvalbúmina (PV+) o fast spiking (FS) cuyos axones se extienden radialmente de manera muy densa lo que se ve reflejado en un $IR > 1$ y una k mayor a las demás sinapsis. Así mismo, la amplitud máxima obtenida para las sinapsis depresoras fue mayor que la obtenida para las sinapsis facilitadoras (A_{max} de las STD $>$ A_{max} de las STF, $p < 0.05$, Kruskal-Wallis con prueba de Dunn como prueba post hoc) aunque no fue significativamente diferente que la obtenida para las sinapsis bifásicas (A_{max} de las STD vs. A_{max} de las STB, $p > 0.05$, Kruskal-Wallis con prueba de Dunn como prueba post hoc). Probablemente, estas diferencias se deben a que las sinapsis depresoras tienen sus contactos sinápticos sobre los somas de las SPNs (donde se realizaron estos registros) mientras que las sinapsis facilitadoras hacen sinapsis en las dendritas de las SPNs. También las fallas sinápticas y la baja probabilidad de liberación explica las amplitudes pequeñas en las sinapsis facilitadoras y las bifásicas, a pesar de que sí pueden exhibir IPSCs de gran amplitud como los mostrados en trazos individuales (Figura 4.1.2A, trazos grises).

	Sinapsis Depresoras		Sinapsis Facilitadoras		Sinapsis Bifásicas	
	Control	6-OHDA	Control	6-OHDA	Control	6-OHDA
A_{max} (pA)	159 ± 1.5	180 ± 1.2	89 ± 6.7	139 ± 1.5	135 ± 11.6	214 ± 9.7
k (Tu/pA)	2.3 ± 0.16	2.5 ± 0.15	1.2 ± 0.4	1 ± 0.03	0.73 ± 0.12	1.05 ± 0.14
I_h (Tu)	2 ± 0.05	2.9 ± 0.02	3.1 ± 0.3	4.9 ± 0.04	4.5 ± 0.36	4.6 ± 0.16

Figura 4.2.2. Parámetros de la ecuación de ajuste de las curvas I-A en sinapsis que exhiben diferentes STSP: $A(I) = \frac{A_{max}}{1+e^{k(I-I_h)}}$ sobre el promedio de las IPSCs \pm el error de estimación.

Trabajos previos han registrado pares entre interneuronas FS y SPNs (Koos *et al.* 2004, Tecuapetla *et al.* 2007a, Russo *et al.* 2013, Szydlowski *et al.* 2013), mientras que no existen suficientes registros entre otras clases de interneuronas y las SPNs (Ibanez-Sandoval *et al.* 2011).

La razón podría ser que debido a que los axones de estas interneuronas se proyectan difusamente en una esfera de $>1000 \mu\text{m}$ de radio (Ibanez-Sandoval *et al.* 2010;2011) complicando la predicción de la neurona postsináptica con la que hará conexión, recordando que el estriado no tiene una estructura en capas o en columnas como otras áreas del cerebro. Sin embargo, estos resultados sugieren que, como en otras áreas del cerebro, diferentes tipos de plasticidad sináptica podría sugerir diferentes interneuronas presinápticas GABAérgicas sobre

las neuronas estriatales de proyección. (Reyes *et al.* 1998, Gupta *et al.* 2000, Beierlein *et al.* 2003b, Silberberg *et al.* 2005, Wang *et al.* 2006, Tecuapetla *et al.* 2007a, Catterall & Few 2008a, Ma *et al.* 2012, Blackman *et al.* 2013, Savanthrapadian *et al.* 2014).

Se sabe que la amplitud de los eventos sinápticos de algunas, no todas, las neuronas GABAérgicas o las terminales en el estriado sobre las SPNs cambian cuando se pierde la aferencia dopaminérgica (Dehorter *et al.* 2009). Por ello, es posible que las plasticidades de corto plazo se vieran afectadas con la pérdida de dopamina como en un modelo de la enfermedad de Parkinson.

4.3. Diferentes STSP son diferencialmente afectadas por la ausencia de DA

Para examinar cómo las entradas GABAérgicas sobre las SPNs podrían ser afectadas por la pérdida de la aferencia dopaminérgica, utilizamos el modelo hemiparkinsoniano de roeador con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Ungerstedt 1968). La 6-OHDA se inyectó unilateralmente en la SNc para eliminar las aferencias dopaminérgicas al estriado. El éxito de la lesión inducida por 6-OHDA se realizó con la prueba de giro inyectando anfetamina 7 días después de la cirugía, contabilizando los giros ipsilaterales (ver Métodos) (Figura 3.5.1)

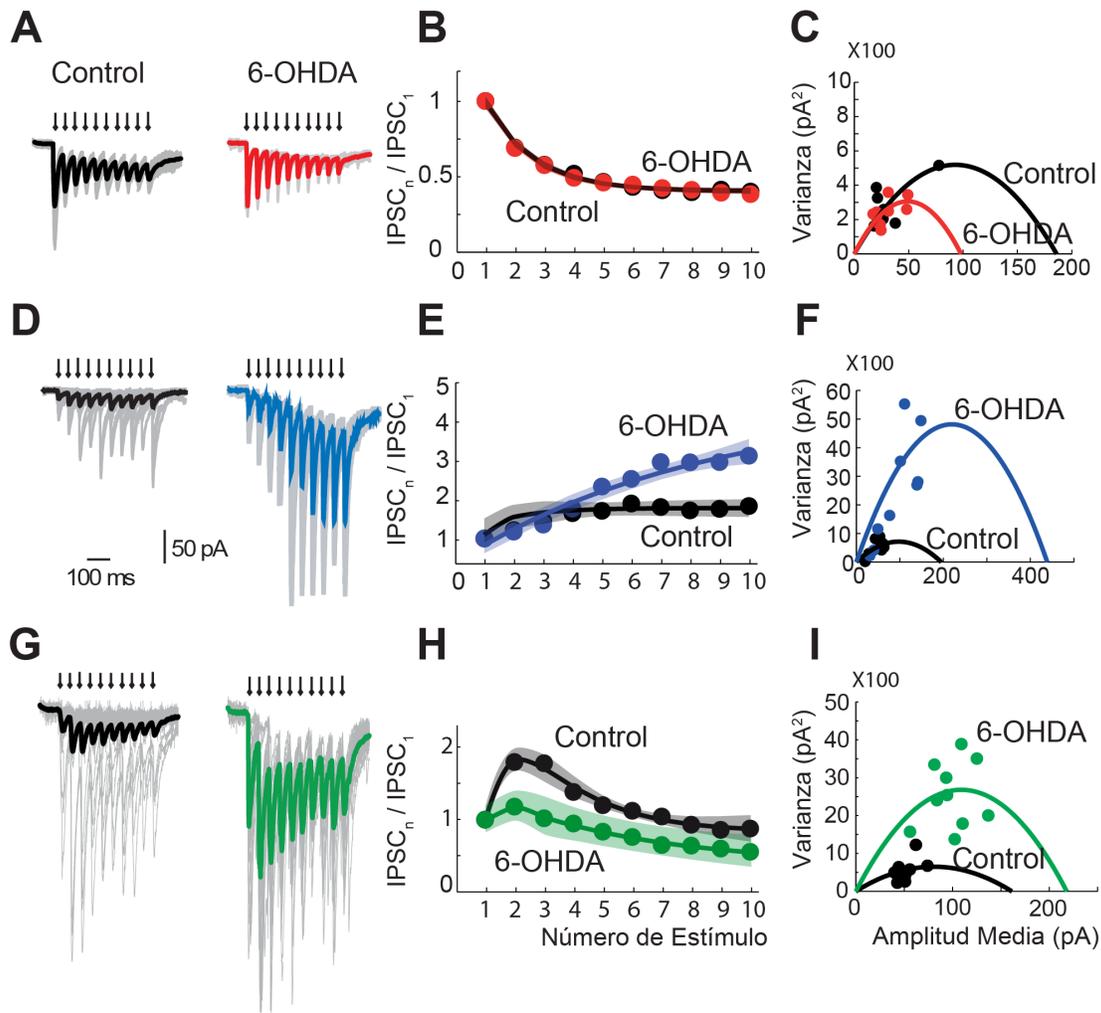


Figura 4.3.1. Las sinapsis en animales lesionados con 6-OHDA son diferencialmente afectadas dependiendo de la plasticidad que exhiban

Los trenes de IPSCs evocados que presentan depresión de corto plazo en condiciones control (Figura 4.3.1A, trazo negro) no difirieron a los evocados en animales lesionados con 6-OHDA (Figura 4.3.1A, trazo rojo). De hecho, la dinámica de la depresión en ambos casos fue muy similar (Figura 4.3.1B) a pesar de que las constantes de tiempo y recuperación de los parámetros ajustados fueran ligeramente diferentes (Tabla 4.1.3). La variación cuántica de los IPSCs (Figura 4.3.1A, trazos grises) en función de la amplitud media se distribuyó de manera similar, indicando, con el análisis de varianza-media (ver Métodos) que la probabilidad de liberación y el número de sitios de liberación de las sinapsis que presentan depresión de corto

plazo no se ven afectados por la falta de DA (Clements & Silver 2000). En contraste, las sinapsis que presentan facilitación de corto plazo (Figura 4.3.1D-F) son altamente afectadas por la falta de DA. La falta de aferencias dopaminérgicas aumentaron la probabilidad de liberación (P_w) (Clements & Silver 2000) de 0.23 ± 0.03 a 0.42 ± 0.03 (media \pm sem) ($p < 0.05$; Prueba U de Mann-Whitney), sugiriendo, que en control, la dopamina ayuda a mantener baja la probabilidad de liberación de estas sinapsis. Este tipo de efectos ya se han descrito para los receptores de dopamina tipo D2 en las terminales entre colaterales de espinosas estriatales (Tecuapetla *et al.* 2007a). En consecuencia con este resultado, el ajuste de la facilitación en animales lesionados (Figura 4.3.1E) cambió, aumentando la constante de tiempo del proceso de recuperación (Tabla 4.1.3). Nótese, de la figura 4.3.1, que las fallas sinápticas disminuyeron. Experimentos representativos en animales lesionados muestran que la varianza de los IPSCs y la amplitud de los mismos describen una parábola más alta y más ancha que la parábola descrita en control, sugiriendo un aumento en la probabilidad de liberación y en los sitios de liberación. Ambas posibilidades fueron exploradas con el modelo matemático propuesto. Las sinapsis bifásicas mostraron resultados similares a las sinapsis facilitadoras (Figura 4.3.1G-I) en ausencia de DA. La probabilidad de liberación, P_w , aumentó de 0.31 ± 0.02 a 0.58 ± 0.01 ($p < 0.05$. Prueba U de Mann-Whitney) por lo que las fallas sinápticas se abolieron. Sin embargo, contra lo esperado, el proceso facilitador en estas sinapsis disminuyó (Figura 4.3.1H), dando lugar a un aumento en el parámetro de ajuste de la constante de tiempo de la depleción (Tabla 4.1.3), mientras que el proceso de depresión que le subsigue se mantuvo similar que en control, por lo que la constante de tiempo de recuperación se mantuvo similar (Tabla 4.1.3). Así mismo, la parábola descrita por la varianza de los IPSCs con respecto a la amplitud media muestra una altura mayor lo que sugiere un aumento en los sitios de liberación, lo cual se analizará con el modelo matemático propuesto.

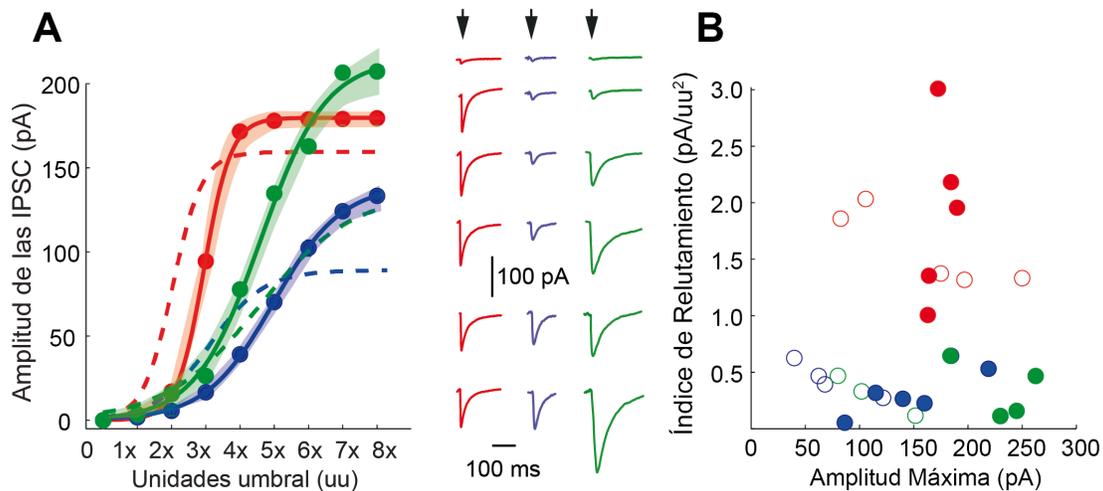


Figura 4.3.2. Cambios en la relación Intensidad-Amplitud en animales lesionados con 6-OHDA. Líneas punteadas representan la relación I-A obtenida en control.

EL reclutamiento de los sitios activos y la amplitud máxima evocada también se estudió en animales lesionados con 6-OHDA mostrando que las sinapsis depresoras se mantienen similares que en condiciones control (Figura 4.3.2 y Tabla 4.2.2). Los trazos sólidos muestran la relación

I-A de animales depletados de DA mientras que los trazos punteados muestran la relación obtenida en control para su comparación. La amplitud máxima obtenida en las sinapsis depresoras fue ligeramente mayor, aunque no hubo cambios significativos. En comparación, las sinapsis facilitadoras aumentaron su amplitud máxima en un 64 % ($p < 0.05$; Prueba Kruskal-Wallis con prueba de Dunn como prueba post hoc) (Tabla 4.2.2) aunque el factor de reclutamiento no cambió significativamente, sugiriendo que la disposición anatómica de los axones y sus sitios de liberación permanece constante en ausencia de DA. Las sinapsis bifásicas mostraron una amplitud máxima mayor que las sinapsis depresoras (Figura 4.3.2) aumentando un 63 % en comparación con su control ($p < 0.05$; Prueba Kruskal-Wallis con prueba de Dunn como prueba post hoc). El factor de reclutamiento aumentó, aunque no de manera significativa.

En resumen, la falta de dopamina afecta de manera diferencial a las sinapsis inhibitoras del estriado sobre las SPN, siendo las sinapsis facilitadoras y bifásicas las más afectadas mostrando una disminución de fallas sinápticas mediante un aumento de la probabilidad de liberación y/o en el número de sitios activos disponibles, además de generar mayor inhibición sobre las SPN, mostrado por el aumento de la amplitud máxima de las IPSCs evocadas en las relaciones I-A.

4.4. Los canales de calcio asociados a la liberación de GABA son diferentes de acuerdo a la STSP

Además de caracterizar las entradas GABAérgicas por su plasticidad de corto plazo y la relación existente entre la amplitud de la respuesta sináptica y la intensidad de la estimulación (relación I-A) se estudiaron los tipos de canales de calcio presentes en las terminales que utiliza cada elemento presináptico para la liberación de GABA. De la variedad de canales de calcio dependientes de voltaje existentes, se sabe que en el sistema nervioso, la subfamilia CaV2, particularmente los canales CaV2.1 (canales de calcio dependientes de voltaje tipo P/Q) y en algunas neuronas, los canales CaV2.2 (canales de calcio dependientes de voltaje tipo N) como en las neuronas LTS hipocámpales (Poncer *et al.* 1997) son los principales canales responsables de la transmisión sináptica (Mochida *et al.* 2008, Catterall & Few 2008b, Catterall *et al.* 2013). La eficiencia en la liberación del neurotransmisor depende de la entrada de calcio a través de estos canales, lo que resulta de gran importancia en la caracterización de las terminales presinápticas.

Para estos experimentos se utilizó la toxina presente en el veneno de un caracol marino que bloquea los canales de calcio CaV2.2 llamada ω -conotoxina GVIA.

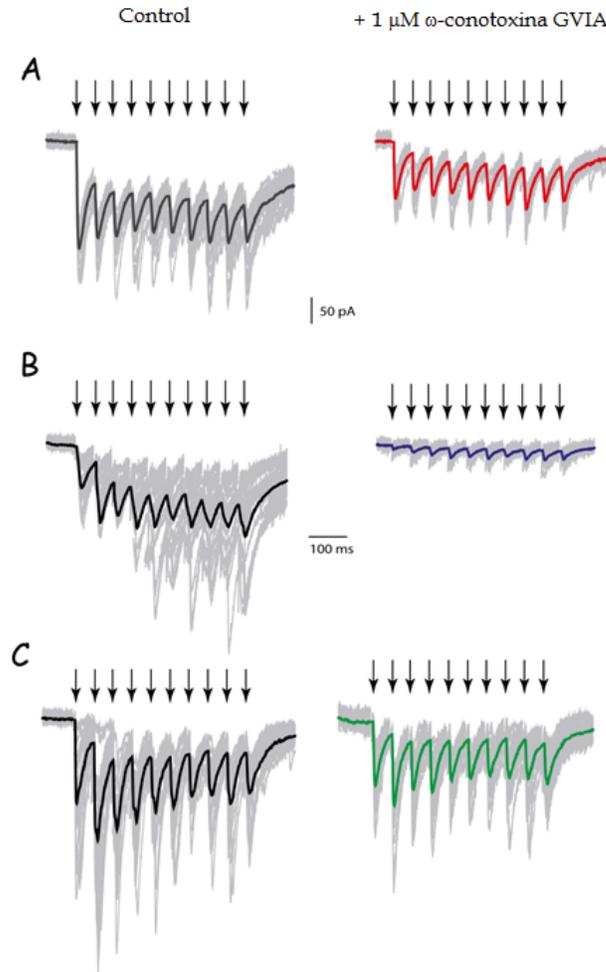


Figura 4.4.1. Participación del canal de calcio tipo N en la liberación de GABA en las sinapsis inhibitorias clasificadas por su STSP.

Las neuronas que mostraron depresión de corto plazo muestran un decremento en la amplitud de la respuesta sináptica, sin embargo, dicha respuesta no se ve abolida por la aplicación de la ω -conotoxina GVIA demostrando así que el canal de calcio CaV2.2 no es el canal responsable de la liberación de GABA. Experimentos realizados sobre interneuronas FS en la corteza prefrontal, muestran que este tipo de interneuronas utilizan el canal de calcio tipo Cav 2.1 y no el CAV2.2 para la liberación de GABA (Tecuapetla *et al.* 2007b, Zaitsev *et al.* 2007) así como en el caso estriatal. Estos resultados, junto con la dinámica particular de corto plazo y la relación IA mostrada por las sinapsis STD nos hacen sugerir que las neuronas que muestran depresión de corto plazo son sinapsis putativas entre interneuronas Fast Spiking y SPNs. Así mismo, las sinapsis bifásicas también mostraron una reducción en la amplitud de las corrientes evocadas

pero estas respuestas no fueron abolidas por la aplicación de la toxina. Por el contrario, la aplicación de la ω -conotoxina disminuye significativamente la respuesta sináptica en las neuronas que mostraron facilitación de corto plazo, esto es, el canal responsable de la liberación de GABA

en las presinapsis que exhiben facilitación de corto plazo es el canal de calcio tipo CaV2.2.

La aplicación de la ω -conotoxina GVIA demuestra que el canal de calcio necesario para la liberación del GABA también es diferencial entre los elementos presinapticos que muestran diferencias en la plasticidad de corto plazo, lo que además sugiere una dependencia diferencial en la maquinaria de liberación subyacente a las diferencias en la dinámica sináptica.

4.5. Modelo matemático

Para examinar la dinámica de la liberación que da lugar a diferentes plasticidades de corto plazo y así poder explicar mejor los cambios descritos en algunas sinapsis por la falta de dopamina, realizamos un modelo matemático (ver Métodos) que simulara una gama de posibles plasticidades, entre ellas, depresión, facilitación y la dinámica bifásica de facilitación seguida de depresión de corto plazo, observadas experimentalmente. Nuestro modelo, en contraste con los que se han propuesto anteriormente (Tsodyks & H 1997a, Markram *et al.* 1998b;a, Dittman *et al.* 2000, Richardson *et al.* 2005), no consta de una variable para la depresión y otra para la facilitación puesto que pensamos que estos procesos son el resultado de una combinación particular de varios mecanismos presinápticos como la cantidad de vesículas listas para liberarse, la probabilidad para liberar esas vesículas y la velocidad con la que la terminal pueda reponerse de un pulso para liberar de nuevo. Por ello, simulamos la dinámica de las tres plasticidades asumiendo las mismas dos variables dinámicas: 1) la probabilidad de liberación, $p(t)$ y 2) la fracción de ocupación vesicular del RRP, $x(t)$. Las variables de estado evolucionan con mecanismos que son cualitativamente iguales pero cuantitativamente diferentes. Esto es, las tres dinámicas tienen la misma forma pero diferentes parámetros. Note que los posibles cambios en los sitios postsinápticos están fuera del alcance de esta tesis.

Para modelar el comportamiento del promedio de las diferentes clases de STSP, medimos los parámetros τ_{Rec} , τ_{Dep} , $p(0)$, $x(0)$ y h para resolver el sistema de ecuaciones 3.6.7 (Ver Métodos). Luego, comparamos la aproximación del modelo al ajuste realizado sobre las dinámicas experimentales con la ecuación 3.6.1. Un tren de 10 pulsos a 20 Hz para detonar la respuesta sináptica (Figura 4.5.1). La probabilidad de liberación $p(t)$, en línea discontinua y la proporción de ocupación de vesículas en el RRP $x(t)$, en línea punteada, se siguieron en el tiempo, estímulo por estímulo. La notación $x(0)$ denota la ocupación inicial de vesículas en el RRP así mismo, $p(0)$ denota la probabilidad inicial de liberación obtenida mediante el análisis

de Varianza-Media (Figura 4.3.1). La cantidad neta de neurotransmisor liberado será entonces calculado como la facilidad de liberar la proporción de vesículas listas para liberar dada por la probabilidad de liberarlas, correspondiente a la multiplicación de $x(t) \cdot p(t)$, graficada en línea gris continua. Se realizó la normalización de NT liberado en cada pulso ($Liberación_n$) con respecto a la liberación de NT del primer pulso ($Liberación_1$) graficada en el tiempo (Figura 4.5.1 trazos continuos de colores) para compararla con las dinámicas experimentales ajustadas con la ecuación 3.6.1 (Figura 4.5.1 trazos continuos negros).

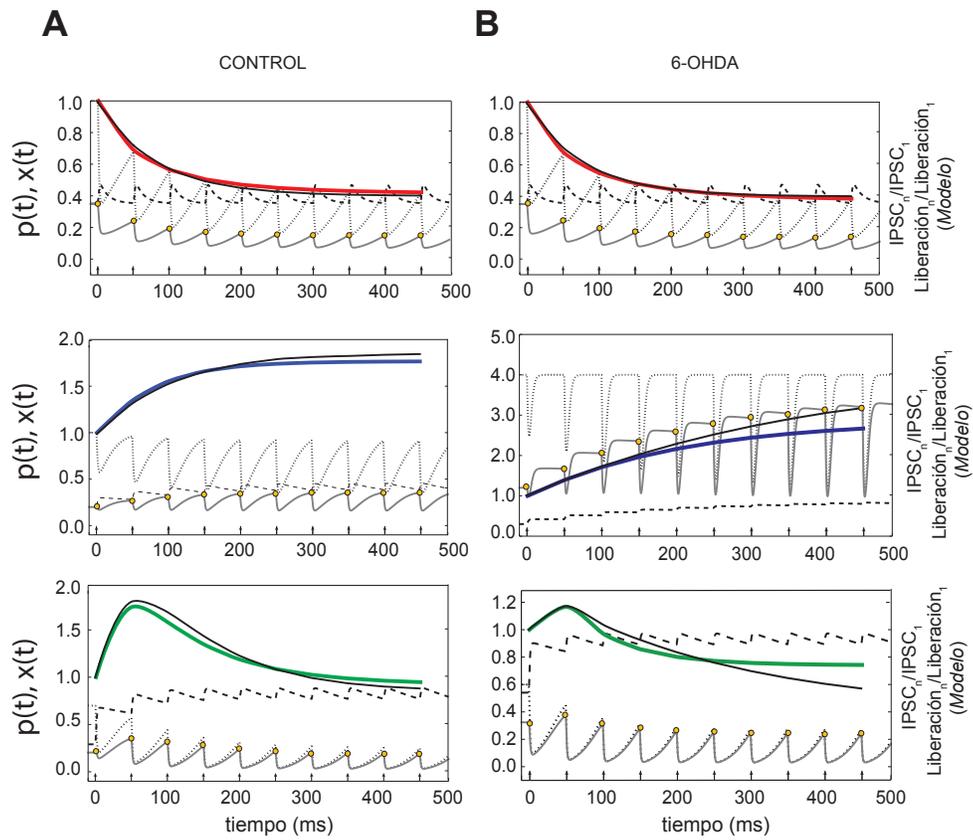


Figura 4.5.1. Reproducción de la dinámica de plasticidad de corto plazo experimental con el modelo propuesto.

En las sinapsis depresoras, la llegada de cada pulso, aumenta un poco la probabilidad de liberación, aunque no cambia mucho en el tiempo, explicando la falta de fallas sinápticas que muestran las sinapsis depresoras. La ocupación de las vesículas del RRP, que inicialmente tiene un valor de 1 (asumiendo que la sinapsis se encuentra en reposo y todas las vesículas del RRP están listas para ser liberadas) sí disminuye drásticamente con cada pulso. Esto causa que la liberación máxima (puntos amarillos sobre la cantidad de NT liberado) disminuya en el tiempo explicando la depresión de corto plazo (Figura 4.5.1A, arriba). En estas sinapsis, los parámetros

que caracterizan su dinámica se preservaron después de la depleción de dopamina (Figura 4.5.1B, arriba). En este caso, el modelo y los datos experimentales, el primero en línea roja y el segundo en línea continua negra, ajustados con la ecuación 3.6.1, muestran una gran cercanía.

Los parámetros utilizados para modelar las sinapsis depresoras fueron: $\tau_{Rec}= 32$ ms, $\tau_{Dep}= 5$ ms, $p(0) = 0.35$, $x(0) = 1$ y $h = 0.1$, confirmando que en estas sinapsis, el proceso de depleción es mucho más rápido que el de recuperación. Los parámetros usados para modelar los cambios en la falta de dopamina fueron: $\tau_{Rec}= 33$ ms, $\tau_{Dep}= 6$ ms, $p(0) = 0.35$, $x(0) = 1$ y $h = 0.1$, de acuerdo con el hecho de que la falta de dopamina no afecta significativamente la dinámica de las sinapsis depresoras. En contraste, en las sinapsis facilitadoras en control se muestra que la tasa de depleción y de recuperación vesicular juntas preservan más o menos la misma proporción de vesículas listas para liberar (Figura 4.5.1A, medio; línea punteada) durante el tren de pulsos.

Además, la probabilidad de liberación (Figura 4.5.1A, medio; línea discontinua) aumenta ligeramente durante en el transcurso del tren de pulsos. Ambos factores juntos producen un aumento en la liberación de NT estímulo tras estímulo (Figura 4.5.1A, medio; puntos amarillos) dando lugar a la dinámica de facilitación característica de estas sinapsis (Figura 4.5.1A, medio; trazo azul) correspondiente a la facilitación observada experimentalmente (Figura 4.5.1A, medio; trazo negro). Sin embargo, en el ajuste de los datos experimentales en el tejido depletado de dopamina, los parámetros cambiaron drásticamente, por lo que el modelo, aunque aproxima la dinámica, no la describe fielmente como en control. La proporción de vesículas inicial cambió dramáticamente, $x(0) = 4$, prediciendo que las terminales presinápticas de estas sinapsis ahora tienen una mayor proporción de vesículas listas para liberarse, de hecho, 4 veces más vesículas que en control (Figura 4.5.1B, medio; línea punteada). Ante cada estímulo el pool de vesículas se repone rápidamente mientras que la probabilidad de liberación aumentaba ligeramente (Figura 4.5.1B, medio; línea discontinua). Ambos factores en conjunto producen el aumento tan grande característico de las sinapsis facilitadoras depletadas de DA. Ajustes en el modelo deben hacerse para lograr la completa convergencia entre el modelo y los datos experimentales. Los parámetros

utilizados para simular las sinapsis STF en control fueron: $\tau_{Rec}= 15$ ms, $\tau_{Dep}= 60$ ms, $p(0) = 0.2$, $x(0) = 1$ y $h = 0.05$, mostrando que la depleción es más lenta que la recuperación como se esperaba. Los parámetros de ajuste para las sinapsis STF después de la lesión con 6-OHDA

fueron: $\tau_{Rec}= 10$ ms, $\tau_{Dep}= 1000$ ms, $p(0) = 0.3$, $x(0) = 4$ y $h = 0.07$, sugiriendo que la depleción vesicular es mucho más lenta y el pool de vesículas mucho más grande con un pequeño cambio en la probabilidad de liberación. La predicción del modelo que el número de vesículas disponibles ante la privación de DA es 4 veces más grande debe comprobarse experimentalmente. Por último, en las sinapsis bifásicas la probabilidad de liberación aumenta con cada estímulo mientras que la proporción de vesículas listas para liberarse disminuye, lo que causa una facilitación inicial seguida de una depresión (Figura 4.5.1A; abajo). El modelo de las sinapsis bifásicas después de la lesión de 6-OHDA muestra un aumento en la probabilidad de liberación. En contraste, hubo un decremento en la ocupación de vesículas (Figura 4.5.1B, abajo). De nuevo, experimentos fisiológicos que comprueben las predicciones del modelo deben realizarse así como la geometría del sistema dinámico para dilucidar si las soluciones encontradas empíricamente corresponden a zonas especiales del espacio fase. Los parámetros de ajuste de las sinapsis STB en control fueron : $\tau_{Rec}= 13$ ms, $\tau_{Dep}= 170$ ms, $p(0) = 0.29$, $x(0) = 0.7$ y $h = 0.3$, sugiriendo que el pool de vesículas en estas presinapsis es 30 % menor que las sinapsis STD y STF. Los parámetros que aproximan el modelo después de la depleción de DA fueron: $\tau_{Rec}= 9.5$ ms, $\tau_{Dep}= 200$ ms, $p(0) = 0.54$, $x(0) = 0.7$ y $h = 0.3$. En contraste con las sinapsis STF, el mayor cambio en las sinapsis STB fue el aumento en la probabilidad inicial de liberación y no la proporción de vesículas del RRP. En resumen, el modelo general aquí propuesto sugiere diferencias mecánicas importantes entre los tres tipos de plasticidades descritas entre elementos GABAérgicos presinápticos y las SPNs. Así mismo, muestra la afectación diferencial entre estos elementos en condiciones de privación dopaminérgica. Estos cambios sugieren experimentos fisiológicos que comprueben las predicciones del modelo.

5 Conclusiones

Se estudió la plasticidad de corto plazo (STSP) de las entradas GABAérgicas que hacen sinapsis con las neuronas estriatales de proyección (SPNs). Revelando que 1) los trenes de sinápticos evocados exhiben tres tipos diferentes de dinámicas sinápticas: depresión de corto plazo (STD), facilitación de corto plazo (STF), y una mezcla de facilitación y depresión denominada plasticidad bifásica de corto plazo (STB). En otros núcleos cerebrales, donde los registros entre interneuronas y neuronas de proyección son más fácilmente realizados, se ha encontrado que cada una de estas dinámicas corresponde a elementos presinápticos distintos, siempre y cuando se mantengan las condiciones experimentales iguales (Reyes *et al.* 1998, Gupta *et al.* 2000, Thomson 2000, Zucker & Regehr 2002, Beierlein *et al.* 2003b, Silberberg *et al.* 2005, Wang *et al.* 2006, Tecuapetla *et al.* 2007a, Catterall & Few 2008a, Ma *et al.* 2012, Blackman *et al.* 2013, Savanthrapadian *et al.* 2014). 2) El ajuste experimental y la simulación computacional muestra que en las sinapsis STF y STB el proceso de depleción tiene a ser menor que en las sinapsis STD, mientras que la probabilidad de liberación es mayor en las sinapsis depresoras. 3) La relación Intensidad-Amplitud (gráficas I-A) se midió en muestras de sinápticos clasificadas por la plasticidad de corto plazo que exhibían, encontrando que cada tipo de plasticidad está asociada a diferentes relaciones I-A. Por ello, es difícil pensar que la misma neurona presináptica pueda exhibir una combinación de estos parámetros funcionales, es decir, dado que la relación I-A, clasificada por la plasticidad que presenta, exhibe diferencias funcionales y anatómicas se concluye que los elementos presinápticos encontrados son diferentes neuronas GABAérgicas. 4) Los canales de calcio responsables de la liberación de GABA difiere de acuerdo a la plasticidad de corto plazo exhibida: las sinapsis facilitadoras utilizan el canal de calcio CaV2.2 (tipo N) mientras que las sinapsis depresoras y bifásicas utilizan el canal de calcio CaV2.1 (tipo P/Q) para liberar el NT. 5) Proponemos un modelo matemático de plasticidad sináptica con dos variables dinámicas: la probabilidad de liberación $p(t)$ y la proporción de vesículas listas para liberarse $x(t)$. Este modelo, reproduce la variedad de plasticidades encontradas experimentalmente en condiciones control. 6) Se ha reportado que algunas entradas GABAérgicas sobre las SPNs sufren cambios funcionales en condiciones de falta de DA (Dehorter *et al.* 2009), en consecuencia, hemos observado que la depleción de dopamina afecta diferencialmente las sinapsis dependiendo de la plasticidad de corto plazo que presenten: las

sinapsis depresoras no se ven afectadas mientras que las sinapsis facilitadoras y bifásicas se ven muy afectadas. 7) El ajuste del modelo sobre la dinámica de las STF durante la depleción de dopamina indica que la maquinaria de liberación está altamente alterada sugiriendo que el mayor cambio se encuentra en la cantidad de vesículas del RRP, aumentado hasta 4 veces, en comparación con su control. Se necesitan hacer experimentos de identificación de la neurona presináptica que muestra facilitación de corto plazo así como la comprobación del aumento del pool de vesículas. De igual manera, el ajuste de las sinapsis bifásicas luego de la lesión con 6-OHDA evidencia cambios drásticos en la maquinaria de liberación sugiriendo que en estas sinapsis el cambio es mayoritario en la probabilidad de liberación y no en el tamaño del pool de vesículas.

Existe un gran número de posibles entradas GABAérgicas sobre las neuronas estriatales de proyección como en otros núcleos (Tepper & Bolam 2004a, Tepper *et al.* 2004; 2008, Ibanez-Sandoval *et al.* 2010; 2011, Muñoz-Manchado *et al.* 2014, Beatty *et al.* 2015) además de la inhibición entre colaterales de espinosas cuya dinámica sináptica y plasticidad de corto plazo difiere de las plasticidades encontradas (Figura 4.1.2). En el presente trabajo, utilizamos la estimulación intraestriatal registrando neuronas espinosas a 1 mm del sitio de estimulación para dilucidar una variedad diferentes entradas GABAérgicas, presumiblemente interneuronas estriatales dado que los registros en pares de neuronas entre interneuronas y espinosas es difícil de obtener (Ibanez-Sandoval *et al.* 2010;2011) dada la falta de organización columnar o laminar presente en otros núcleos. ASÍ mismo, se sabe que las técnicas optogenéticas pueden interferir en la maquinaria de liberación cambiando la dinámica de liberación de las neuronas presinápticas (Jackman *et al.* 2014). Además, proponemos un nuevo modelo computacional para estudiar la plasticidad sináptica revelando diferencias entre los mecanismos básicos de cada sinapsis subyacentes a las diferentes dinámicas sinápticas y sus cambios diferenciales en la privación de dopamina. Las consecuencias de estos rearrreglos en el microcircuito estriatal parkinsoniano son todavía desconocidos, generando nuevas preguntas a nivel experimental y teórico sobre el papel que juegan las interneuronas estriatales en la orquestación y reorganización del microcircuito estriatal.

Apéndice A: Registro en pares de interneuronas NPY+ y SPNs

Utilizando ratones homocigotos B6.FVB-Tg(Npy-hrGFP)^{1Lowl/J} (BAC-GFP NPY+) adultos de 2 meses de edad se estudió la posibilidad de que uno de estos dos tipos neuronales (NPY-PLTS y NPY-NGF) pudieran ser las responsables de la plasticidad STF o STB. Se realizaron experimentos en pares de interneuronas NPY+-SPN.

Las rebanadas se observaron bajo un microscopio de epifluorescencia. Una vez que la interneurona marcada con GFP fue identificada, se cambió a la configuración de video-microscopia de iluminación infrarroja para el registro electrofisiológico. Se identificaron dos tipos de interneuronas marcadas, correspondientes a las descritas en Ibanez-Sandoval *et al.* 2011 (Figura 5.0.1).

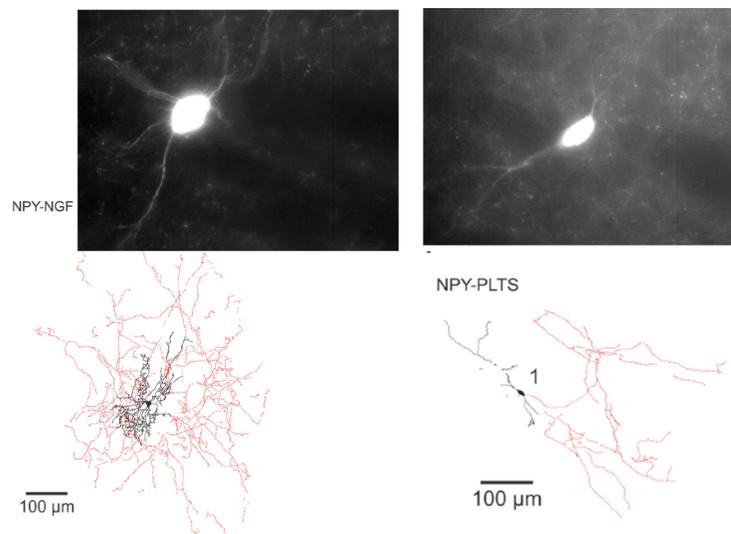


Figura 5.0.1. Identificación de los dos tipos de interneurona positiva a NPY.

Las neuronas identificadas como NPY-NGF son neuronas descritas recientemente como

neuronas neurogliformes con un soma redondeado y cuyo axón se expande densamente de manera radial alrededor del soma (Figura 5.0.1 izquierda), mientras que las neuronas identificadas como NPY-PLTS muestran un soma elipsoide y extienden su axón de manera difusa dentro del estriado. La probabilidad de conexión entre las NPY-NGF y las SPN es del 80-85 % debido a la densa arborización de su axón. El registro de la interneurona NPY-NGF se realizó en fijación de corriente y se registraron las corrientes postsinápticas evocadas en una SPN en fijación de voltaje.

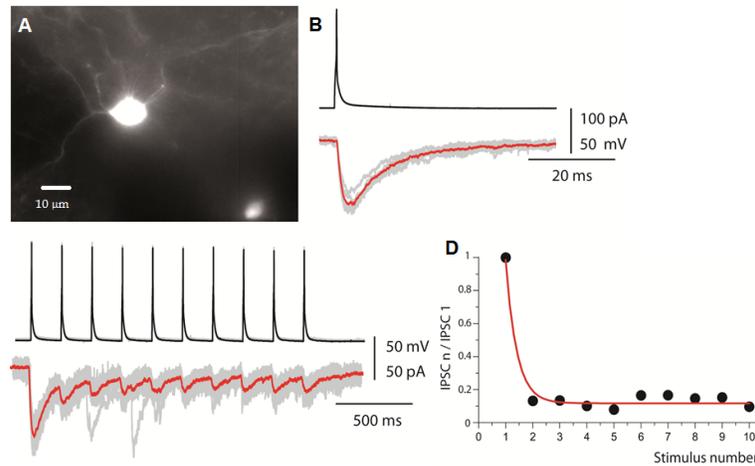


Figura 5.0.2. Caracterización de la plasticidad de corto plazo en la sinapsis entre neuronas NPY-NGF y SPN.

La figura 5.0.2A muestra la identificación de las neuronas NPY-NGF. La conexión entre la NPY-NGF y la SPN se identificó mediante las corrientes postsinápticas evocadas en la SPN por un potencial de acción generado en la NPY-NGF presináptica (Figura 5.0.2B). La plasticidad de corto plazo en esta sinapsis se realizó generando 10 potenciales de acción en la presinapsis mediante la estimulación de 10 pulsos breves (5 ms) de corriente a 20 Hz y se registraron las corrientes postsinápticas provocadas en una SPN mostrando una marcada depresión de corto plazo, mucho mayor a la descrita entre sinapsis FS-SPN y entre SPNs. Con estos resultados podemos descartar a la interneurona NPY-NGF como posible elemento presináptico responsable de la facilitación de corto plazo y de la plasticidad bifásica sobre las SPNs.

Los mismos experimentos se realizaron tomando como presinapsis la NPY-PLTS, a pesar de que la probabilidad de conexión entre las NPY-PLTS y las SPNs es de 1 % dado que el axón de las NPY-PLTS se extiende de manera escasa dentro del estriado. La figura 5.0.3A muestra la

identificación de la interneurona NPY-PLTS. La conexión de la sinapsis se identificó por las corrientes postsinápticas evocadas en la SPN ante un potencial de acción generado en la NPY-PLTS. Esta sinapsis evoca corrientes postsinápticas más pequeñas que van desde las múltiples fallas sinápticas, no mostradas para la mejor visualización de la corriente máxima generada, mostrada en la figura 5.0.3B en trazo rojo la cual tiene una amplitud de 20 pA. EL protocolo de plasticidad se realizó generando 10 potenciales de acción en la presinapsis mediante la estimulación de 10 pulsos breves (5 ms) de corriente a 20 Hz y se registraron las corrientes postsinápticas evocadas en una SPN. Sin embargo, en esta sinapsis no fue posible concluir la dinámica de plasticidad de corto plazo debido a las múltiples fallas sinápticas. Un ejemplo representativo de la conexión se muestra en la figura 5.0.3C en trazo rojo, donde se observa que no todos los potenciales de acción evocan una corriente postsináptica, así como no existe una relación entre la máxima amplitud del IPSC y el número de potencial que lo evoca. Los registros realizados en los que se obtuvieron pares de NPY-PLTS y SPN conectados fueron muy bajos (n=3 de 33 pares registrados) en los cuales sólo en 2 se pudieron realizar el protocolo de plasticidad sináptica. Por lo tanto, no podemos concluir en una caracterización de la plasticidad de corto plazo en esta sinapsis y saber si esta sinapsis es la responsable de la facilitación de corto plazo o de la plasticidad bifásica descritas anteriormente.

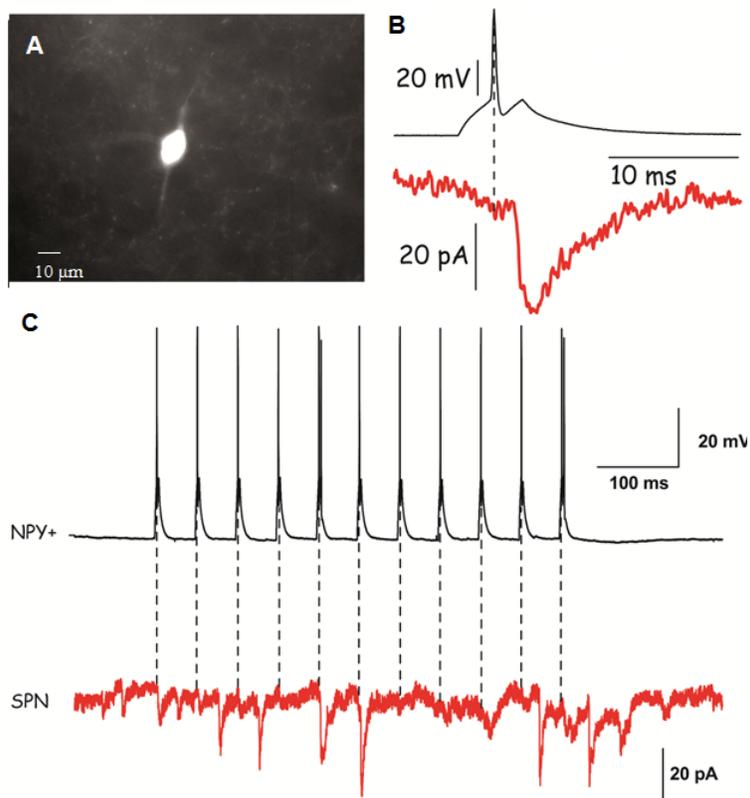


Figura 5.0.3. Caracterización de la plasticidad de corto plazo en la sinapsis entre neuronas NPY-PLTS y SPN.

Experimentos en otras interneuronas estriatales como las que expresan 5-HT3, SST y nNOS deber realizarse para identificar las neuronas presinapáticas que se ven grandemente afectadas en la depleción de dopamina como se ha descrito en el presente trabajo.

Bibliografía

- ABBOTT, LF, & REGEHR, WG. 2004. Synaptic computation. *Nature*, **431**(October), 796–803.
- ALBIN, RL, YOUNG, AB, & PENNEY, JB. 1989. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in neurosciences*, **12**(10), 366–375.
- BALAJI, J, & RYAN, TA. 2007. Single-vesicle imaging reveals that synaptic vesicle exocytosis and endocytosis are coupled by a single stochastic mode. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **104**, 20576–20581.
- BEATTY, JA., SONG, SC., & WILSON, CJ. 2015. Cell-type-specific resonances shape the responses of striatal neurons to synaptic input. *Journal of neurophysiology*, **113**(November 2014), 688–700.
- BEIERLEIN, M, GIBSON, JR, & CONNORS, BW. 2003a. Two dynamically distinct inhibitory networks in layer 4 of the neocortex. *Journal of neurophysiology*, **90**, 2987–3000.
- BEIERLEIN, M, GIBSON, JR, & CONNORS, BW. 2003b. Two dynamically distinct inhibitory networks in layer 4 of the neocortex. *Journal of neurophysiology*, **90**(5), 2987–3000.
- BLACKMAN, AV, ABRAHAMSSON, T, COSTA, RP, LALANNE, T, & SJÖSTRÖM, PJ. 2013. Target-cell-specific short-term plasticity in local circuits. *Frontiers in synaptic neuroscience*, **5**(December), 11.
- BOLLMANN, JH, & SAKMANN, B. 2005. Control of synaptic strength and timing by the release-site Ca²⁺ signal. *Nature neuroscience*, **8**(4), 426–434.
- BUONOMANO, DV. 2000. Decoding temporal information: A model based on short-term synaptic plasticity. *Journal of neuroscience*, **20**(3), 1129–1141.
- CARDIN, JA, CARLÉN, M, MELETIS, K, KNOBLICH, U, ZHANG, F, DEISSEROTH, K, TSAI, L, & MOORE, C.I. 2009. Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature*, **459**(7247), 663–7.
- CARRILLO-REID, L, TECUAPETLA, F, TAPIA, D, HERNÁNDEZ-CRUZ, A, GALARRAGA, E, DRUCKER-COLIN, R, & BARGAS, J. 2008. Encoding network states by striatal cell assemblies. *Journal of neurophysiology*, **99**(3), 1435–1450.

- CARRILLO-REID, L, HERNANDEZ-LOPEZ, S, TAPIA, D, GALARRAGA, E, & BARGAS, J. 2011. Dopaminergic modulation of the striatal microcircuit: receptor-specific configuration of cell assemblies. *The journal of neuroscience*, **31**(42), 14972–14983.
- CATTERALL, WA., & FEW, AP. 2008a. Calcium Channel Regulation and Presynaptic Plasticity. *Neuron*, **59**, 882–901.
- CATTERALL, WA, & FEW, AP. 2008b. *Calcium Channel Regulation and Presynaptic Plasticity*.
- CATTERALL, WILLIAM A, LEAL, KARINA, & NANOU, EVANTHIA. 2013. *Calcium channels and short-term synaptic plasticity*.
- CLEMENTS, JD. 2003. Variance mean analysis: a simple and reliable approach for investigating synaptic transmission and modulation. *Journal of neuroscience methods*, **130**(2), 115–125.
- CLEMENTS, JD, & SILVER, RA. 2000. Unveiling synaptic plasticity: a new graphical and analytical approach. *Trends in neurosciences*, **23**(3), 105–13.
- CZUBAYKO, U, & PLENZ, D. 2002. Fast synaptic transmission between striatal spiny projection neurons. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **99**(Track II), 15764–15769.
- DEHORTER, N, GUIGONI, C, LOPEZ, C, HIRSCH, J, EUSEBIO, A, BEN-ARI, Y, & HAMMOND, C. 2009. Dopamine-deprived striatal GABAergic interneurons burst and generate repetitive gigantic IPSCs in medium spiny neurons. *The journal of neuroscience*, **29**(24), 7776–7787.
- DEL CASTILLO, J, & KATZ, B. 1954. Statistical Factors Involved in Neuromuscular Facilitation and Depression. *Journal of physiology*, **124**, 574–585.
- DELONG, MR, & WICHMANN, T. 2007. Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. *Archives of neurology*, **64**(1), 20–24.
- DITTMAN, JS, KREITZER, AC, & REGEHR, WG. 2000. Interplay between facilitation, depression, and residual calcium at three presynaptic terminals. *The journal of neuroscience*, **20**(4), 1374–1385.
- DUTTA ROY, R, STEFAN, MI, & ROSENMUND, C. 2014. Biophysical properties of presynaptic short-term plasticity in hippocampal neurons: insights from electrophysiology, imaging and mechanistic models. *Frontiers in cellular neuroscience*, **8**(May), 141.
- FISHER, S. 1997. Multiple overlapping processes underlying short-term synaptic enhancement. *Trends in neurosciences*, **20**(4), 170–177.
- FLORES-BARRERA, E, VIZCARRA-CHACÓN, BJ, TAPIA, D, BARGAS, J, & GALARRAGA, E. 2010. Different corticostriatal integration in spiny projection neurons from direct and indirect pathways. *Frontiers in systems neuroscience*, **4**(June), 15.

- FORSYTHE, ID, TSUJIMOTO, T, BARNES-DAVIES, M, CUTTLE, MF, & TAKAHASHI, T. 1998. Inactivation of presynaptic calcium current contributes to synaptic depression at a fast central synapse. *Neuron*, **20**, 797–807.
- FORTUNE, ES, & ROSE, GJ. 2000. Short-term synaptic plasticity contributes to the temporal filtering of electrosensory information. *The journal of neuroscience*, **20**(18), 7122–7130.
- FREUND, TF, KATONA, I, & PIOMELLI, D. 2003. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiological reviews*, **83**, 1017–1066.
- FREUND TF, HÁJOS N. 2002. Excitment Reduces Inhibition via Endocannabinoids. *Neuron*, **1**, 362–365.
- FUKUDOME, Y, OHNO-SHOSAKU, T, MATSUI, M, OMORI, Y, FUKAYA, M, TSUBOKAWA, H, TAKETO, MM, WATANABE, M, MANABE, T, KANO, M, OHNO-SHOSAKU, ĀT, & MATSUI, ĀM. 2004. Two distinct classes of muscarinic action on hippocampal inhibitory synapses : M 2 -mediated direct suppression and M 1 / M 3 -mediated indirect suppression through endocannabinoid signalling. *The european journal of neuroscience*, **19**(March), 2682–2692.
- FULTON, D, CONDRÓ, MC, PEARCE, K, & GLANZMAN, DL. 2008. The potential role of postsynaptic phospholipase C activity in synaptic facilitation and behavioral sensitization in *Aplysia*. *Journal of neurophysiology*, **100**(May 2008), 108–116.
- GEORGE, AA, LYONS-WARREN, AM, MA, X, & CARLSON, BA. 2011. A diversity of synaptic filters are created by temporal summation of excitation and inhibition. *The journal of neuroscience*, **31**(41), 14721–34.
- GITTIS, AH, & KREITZER, AC. 2012. Striatal microcircuitry and movement disorders. *Trends in neurosciences*, **35**(9), 557–64.
- GITTIS, AH, NELSON, AB, THWIN, MT, PALOP, JJ, & KREITZER, AC. 2010. Distinct roles of GABAergic interneurons in the regulation of striatal output pathways. *The journal of neuroscience*, **30**(6), 2223–2234.
- GOLDMAN, MS, MALDONADO, P, & ABBOTT, LF. 2002. Redundancy reduction and sustained firing with stochastic depressing synapses. *The journal of neuroscience*, **22**(2), 584–591.
- GRANSETH, B, & LAGNADO, L. 2008. The role of endocytosis in regulating the strength of hippocampal synapses. *Journal of physiology*, **586**, 5969–5982.
- GRANSETH, B, ODERMATT, B, ROYLE, SJ, & LAGNADO, L. 2006. Clathrin-mediated endocytosis is the dominant mechanism of vesicle retrieval at hippocampal synapses. *Neuron*, **51**(6), 773–86.
- GRAYBIEL, AM. 2000. The basal ganglia. *Current biology*, **10**(14), R509–R511.
- GUPTA, A, WANG, Y, & MARKRAM, H. 2000. Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science*, **287**(2000), 273–278.

- GUZMÁN, JN, HERNÁNDEZ, A, GALARRAGA, E, TAPIA, D, LAVILLE, A, VERGARA, R, ACEVES, J, & BARGAS, J. 2003. Dopaminergic modulation of axon collaterals interconnecting spiny neurons of the rat striatum. *The journal of neuroscience*, **23**(26), 8931–8940.
- HAMMOND, C, BERGMAN, H, & BROWN, P. 2007. Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends in neurosciences*, **30**(7), 357–64.
- HAYUT, I, FANSELOW, EE., CONNORS, BW., & GOLOMB, D. 2011. LTS and FS inhibitory interneurons, short-term synaptic plasticity, and cortical circuit dynamics. *Plos computational biology*, **7**(10).
- HENNIG, MH. 2013a. Theoretical models of synaptic short term plasticity. *Frontiers in computational neuroscience*, **7**(April), 45.
- HENNIG, MH. 2013b. Theoretical models of synaptic short term plasticity. *Frontiers in computational neuroscience*, **7**(April), 45.
- HERNÁNDEZ-LÓPEZ, S, BARGAS, J, SURMEIER, DJ, REYES, A, & GALARRAGA, E. 1997. D1 receptor activation enhances evoked discharge in neostriatal medium spiny neurons by modulating an l-type ca²⁺ conductance. *The journal of neuroscience*, **17**(9), 3334–3342.
- HERNÁNDEZ-LÓPEZ, S, TKATCH, T, PEREZ-GARCI, E, GALARRAGA, E, BARGAS, J, HAMM, H, & SURMEIER, DJ. 2000. D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce l-type ca²⁺ currents and excitability via a novel plc β 1–ip3–calcineurin-signaling cascade. *The journal of neuroscience*, **20**(24), 8987–8995.
- HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, R, ACEVES, JJ., RUEDA-OROZCO, PE., HERNÁNDEZ-FLORES, T, HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, O, TAPIA, D, GALARRAGA, E, & BARGAS, J. 2015. Muscarinic presynaptic modulation in GABAergic pallidal synapses of the rat. *Journal of neurophysiology*, **113**, 796–807.
- HOFFMAN, AF, OZ, M, CAULDER, T, & LUPICA, CR. 2003. Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. *The journal of neuroscience*, **23**(12), 4815–4820.
- IBANEZ-SANDOVAL, O, TECUAPETLA, F, UNAL, B, SHAH, F, KOOS, T, & TEPPER, JM. 2010. Electrophysiological and morphological characteristics and synaptic connectivity of tyrosine hydroxylase-expressing neurons in adult mouse striatum. *The journal of neuroscience*, **30**(20), 6999–7016.
- IBANEZ-SANDOVAL, O., TECUAPETLA, F., UNAL, B., SHAH, F., KOOS, T., & TEPPER, JM. 2011. A Novel Functionally Distinct Subtype of Striatal Neuropeptide Y Interneuron. *The journal of neuroscience*, **31**(46), 16757–16769.

- IZHIKEVICH, EM, DESAI, NS, WALCOTT, EC, & HOPPENSTEADT, FC. 2003. Bursts as a unit of neural information: selective communication via resonance. *Trends in neurosciences*, **26**(3), 161–7.
- JACKMAN, SL, BENEDEUCE, BM, DREW, IR, & REGEHR, WG. 2014. Achieving high-frequency optical control of synaptic transmission. *The journal of neuroscience*, **34**(22), 7704–14.
- JÁIDAR, O, CARRILLO-REID, L, HERNÁNDEZ, A, DRUCKER-COLÍN, R, BARGAS, J, & HERNÁNDEZ-CRUZ, A. 2010. Dynamics of the Parkinsonian striatal microcircuit: entrainment into a dominant network state. *The journal of neuroscience*, **30**(34), 11326–36.
- KATZ, B, & MILEDI, R. 1968. The role of calcium neuromuscular Facilitation. *Journal of physiology*, **195**, 481–492.
- KAVALALI, ET. 2007. Multiple vesicle recycling pathways in central synapses and their impact on neurotransmission. *Journal of physiology*, **585**(3), 669–79.
- KAWAGUCHI, Y, WILSON, CJ, AUGOOD, SJ, & EMSON, PC. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in neurosciences*, **18**(12), 527–535.
- KLAUSBERGER, T, & SOMOGYI, P. 2008. Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science*, **321**(July), 53–57.
- KOOS, T, TEPPER, JM, & WILSON, CJ. 2004. Comparison of IPSCs evoked by spiny and fast-spiking neurons in the neostriatum. *The journal of neuroscience*, **24**(36), 7916–7922.
- KOPELL, N, WHITTINGTON, MA, & KRAMER, MA. 2011. Neuronal assembly dynamics in the beta1 frequency range permits short-term memory. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **108**(9), 3779–3784.
- LANGE-ASSCHENFELDT, C, SCHIPKE, CG., & RIEPE, MW. 2007. Multimodal gain control at the hippocampal Schaffer collateral-CA1 synapse. *Neuroscience letters*, **416**, 101–105.
- LILEY, AW., & NORTH, KA. 1953. An Electrical Investigation of effects of repetitive stimulation on mammalian neuromuscular junction. *Journal on neurophysiology*, **16**(5), 509–527.
- LÓPEZ-HUERTA, VG, BLANCO-HERNÁNDEZ, E, BARGAS, J, & GALARRAGA, E. 2012. Presynaptic modulation by somatostatin in the rat neostriatum is altered in a model of parkinsonism. *Journal of neurophysiology*, **108**(4), 1032–43.
- LÓPEZ-HUERTA, VG, CARRILLO-REID, L, GALARRAGA, E, TAPIA, D, FIORDELISIO, T, DRUCKER-COLIN, R, & BARGAS, J. 2013. The balance of striatal feedback transmission is disrupted in a model of parkinsonism. *The journal of neuroscience*, **33**(11), 4964–75.
- LÓPEZ-MURCIA, FJ, ROYLE, SJ, & LLOBET, A. 2014. Presynaptic clathrin levels are a limiting factor for synaptic transmission. *The journal of neuroscience*, **34**(25), 8618–29.

- MA, Y, HU, H, & AGMON, A. 2012. Short-term plasticity of unitary inhibitory-to-inhibitory synapses depends on the presynaptic interneuron subtype. *The journal of neuroscience*, **32**(3), 983–8.
- MACLEOD, KM. 2011. *Short-term synaptic plasticity and intensity coding*.
- MACLEOD, KM, HORIUCHI, TK, & CARR, CE. 2007. A role for short-term synaptic facilitation and depression in the processing of intensity information in the auditory brain stem. *Journal of neurophysiology*, **97**(January 2007), 2863–2874.
- MAGLEBY, KL, & ZENGEL, JE. 1982. A quantitative description of stimulation-induced changes in transmitter release at the frog neuromuscular junction. *The journal of general physiology*, **80**(October), 613–638.
- MANSVELDER, HD, MERTZ, M, & ROLE, LW. 2009. Nicotinic modulation of synaptic transmission and plasticity in cortico-limbic circuits. *Seminars in cell and developmental biology*, **20**, 432–440.
- MARINESCO, S, KOLKMAN, KE, & CAREW, TJ. 2004. Serotonergic modulation in aplysia. I. Distributed serotonergic network persistently activated by sensitizing stimuli. *Journal of neurophysiology*, **92**(May 2004), 2468–2486.
- MARKRAM, H, WANG, Y, & TSODYKS, M. 1998a. Differential signaling via the same axon of neocortical pyramidal neurons. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **95**(April), 5323–5328.
- MARKRAM, H, PIKUS, D, GUPTA, A, & TSODYKS, M. 1998b. Potential for multiple mechanisms, phenomena and algorithms for synaptic plasticity at single synapses. *Neuropharmacology*, **37**(4–5), 489–500.
- MASSI, L, LAGLER, M, HARTWICH, K, BORHEGYI, Z, SOMOGYI, P, & KLAUSBERGER, T. 2012. Temporal dynamics of parvalbumin-expressing axo-axonic and basket cells in the rat medial prefrontal cortex in vivo. *The journal of neuroscience*, **32**(46), 16496–16502.
- MIGUELEZ, C, MORIN, S, MARTINEZ, A, GOILLANDEAU, M, BEZARD, E, BIOULAC, B, & BAUFRETON, J. 2012. Altered pallido-pallidal synaptic transmission leads to aberrant firing of globus pallidus neurons in a rat model of Parkinson’s disease. *Journal of physiology*, **590**(Pt 22), 5861–75.
- MILLAR, AG, ZUCKER, RS, ELLIS-DAVIES, GC, CHARLTON, MP, & ATWOOD, HL. 2005. Calcium sensitivity of neurotransmitter release differs at phasic and tonic synapses. *The journal of neuroscience*, **25**(12), 3113–3125.
- MOCHIDA, S, FEW, AP, SCHEUER, T, & CATTERALL, WA. 2008. Regulation of presynaptic Ca(V)2.1 channels by Ca²⁺ sensor proteins mediates short-term synaptic plasticity. *Neuron*, **57**(2), 210–6.

- MORRIS, RGM. 2003. Long-term potentiation and memory. *Philosophical transactions of the royal society of london. series b, biological sciences*, **358**(1432), 643–7.
- MUÑOZ-MANCHADO, AB, FOLDI, C, SZYDLOWSKI, S, SJULSON, L, FARRIES, M, WILSON, C, SILBERBERG, G, & HJERLING-LEFFLER, J. 2014. Novel striatal gabaergic interneuron populations labeled in the 5ht3aegfp mouse. *Cerebral cortex*, bhu179.
- NEHER, E. 2010. What is Rate-Limiting during Sustained Synaptic Activity: Vesicle Supply or the Availability of Release Sites. *Frontiers in synaptic neuroscience*, **2**(September), 144.
- NIKOLAEV, A, LEUNG, KM, ODERMATT, B, & LAGNADO, L. 2013. Synaptic mechanisms of adaptation and sensitization in the retina. *Nature neuroscience*, **16**(7), 934–41.
- OBESO, J A, RODRIGUEZ-OROZ, MC, STAMELOU, M, BHATIA, KP, & BURN, DJ. 2014. The expanding universe of disorders of the basal ganglia. *Lancet*, **384**(9942), 523–31.
- O'DONOVAN, M. 1997. Synaptic depression: a dynamic regulator of synaptic communication with varied functional roles. *Trends in neurosciences*, **20**(10), 431–433.
- OHNO-SHOSAKU, T, & KANO, M. 2014. Endocannabinoid-mediated retrograde modulation of synaptic transmission. *Current opinion in neurobiology*, **29**, 1–898.
- OHTSUKI, G, PIOCHON, C, & HANSEL, C. 2009. Climbing fiber signaling and cerebellar gain control. *Frontiers in cellular neuroscience*, **3**(July), 4.
- PAN, B, & ZUCKER, RS. 2009. A General Model of Synaptic Transmission and Short-Term Plasticity. *Neuron*, **62**(4), 1–30.
- PLANERT, H, SZYDLOWSKI, SN, HJORTH, JJJ, GRILLNER, S, & SILBERBERG, G. 2010. Dynamics of synaptic transmission between fast-spiking interneurons and striatal projection neurons of the direct and indirect pathways. *The journal of neuroscience*, **30**(9), 3499–3507.
- PONCER, JC, MCKINNEY, RA, GÄHWILER, BH, & THOMPSON, SM. 1997. Either n-or p-type calcium channels mediate gaba release at distinct hippocampal inhibitory synapses. *Neuron*, **18**(3), 463–472.
- RAVIN, R, PARNAS, H, SPIRA, ME, VOLFOVSKY, N, & PARNAS, I. 1999. Simultaneous measurement of evoked release and $[Ca^{2+}]_i$ in a crayfish release bouton reveals high affinity of release to Ca^{2+} . *Journal of neurophysiology*, **81**, 634–642.
- REGEHR, WG, DELANEY, KR, & TANK, DAVID W. 1994. The role of presynaptic calcium in short-term enhancement at the hippocampal mossy fiber synapse. *The journal of neuroscience*, **14**(February), 523–537.
- REYES, A, LUJAN, R, ROZOV, A, BURNASHEV, N, SOMOGYI, P, & SAKMANN, B. 1998. Target-cell-specific facilitation and depression in neocortical circuits. *Nature neuroscience*, **1**, 279–285.

- RICHARDSON, MJ, MELAMED, O, SILBERBERG, G, GERSTNER, W, & MARKRAM, H. 2005. Short-term synaptic plasticity orchestrates the response of pyramidal cells and interneurons to population bursts. *Journal of computational neuroscience*, **18**, 323–331.
- RUSSO, G, NIEUS, TR, MAGGI, S, & TAVERNA, S. 2013. Dynamics of action potential firing in electrically connected striatal fast-spiking interneurons. *Frontiers in cellular neuroscience*, **7**(November), 209.
- SALIN, PA, & SCANZIANI, M. 1996. Distinct short-term plasticity at two excitatory synapses in the hippocampus. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **93**(November), 13304–13309.
- SAVANTHRAPADIAN, S, MEYER, T, ELGUETA, C, BOOKER, SA, VIDA, I, & BARTOS, M. 2014. Synaptic properties of SOM- and CCK-expressing cells in dentate gyrus interneuron networks. *The journal of neuroscience*, **34**(24), 8197–209.
- SEDLACEK, M, & BRENOWITZ, SD. 2014. Cell-type specific short-term plasticity at auditory nerve synapses controls feed-forward inhibition in the dorsal cochlear nucleus. *Frontiers in neural circuits*, **8**(July), 1–12.
- SILBERBERG, G, GRILLNER, S, LEBEAU, FEN, MAEX, R, & MARKRAM, H. 2005. *Synaptic pathways in neural microcircuits*.
- SIMS, RE, WOODHALL, GL, WILSON, CL, & STANFORD, IM. 2008. Functional characterization of GABAergic pallidopallidal and striatopallidal synapses in the rat globus pallidus in vitro. *European journal of neuroscience*, **28**(August), 2401–2408.
- SIROTA, A, MONTGOMERY, S, FUJISAWA, S, ISOMURA, Y, ZUGARO, M, & BUZSÁKI, G. 2008. Entrainment of Neocortical Neurons and Gamma Oscillations by the Hippocampal Theta Rhythm. *Neuron*, **60**, 683–697.
- STEVENS, CF, & WESSELING, JF. 1999. Augmentation is a potentiation of the exocytotic process. *Neuron*, **22**, 139–146.
- SUN, HY, BARTLEY, AF, & DOBRUNZ, LE. 2009. Calcium-permeable presynaptic kainate receptors involved in excitatory short-term facilitation onto somatostatin interneurons during natural stimulus patterns. *Journal of neurophysiology*, **101**, 1043–1055.
- SURMEIER, DJ, PLOTKIN, J, & SHEN, W. 2009. Dopamine and synaptic plasticity in dorsal striatal circuits controlling action selection. *Current opinion in neurobiology*, **19**(6), 621–628.
- SZYDŁOWSKI, SN, POLLAK DOROCIC, I, PLANERT, H, CARLEN, M, MELETIS, K, & SILBERBERG, G. 2013. Target Selectivity of Feedforward Inhibition by Striatal Fast-Spiking Interneurons. *The journal of neuroscience*, **33**(4), 1678–1683.

- TAKAKUSAKI, K, SAITOH, K, HARADA, H, & KASHIWAYANAGI, M. 2004. Role of basal ganglia and the brainstem pathways in the control of motor behaviors. *Neuroscience research*, **50**, 137–151.
- TASCHENBERGER, H, SCHEUSS, V, & NEHER, E. 2005. Release kinetics, quantal parameters and their modulation during short-term depression at a developing synapse in the rat CNS. *Journal of physiology*, **568**, 513–537.
- TAVERNA, S, ILIJIC, E, & SURMEIER, DJ. 2008. Recurrent collateral connections of striatal medium spiny neurons are disrupted in models of Parkinson’s disease. *The journal of neuroscience*, **28**(21), 5504–5512.
- TE WOERD, ES, OOSTENVELD, R, DE LANGE, FP, & PRAAMSTRA, P. 2014. A shift from prospective to reactive modulation of beta-band oscillations in Parkinson’s disease. *Neuroimage*, **100**(Oct.), 507–19.
- TECUAPETLA, F, CARRILLO-REID, L, GUZMÁN, JN, GALARRAGA, E, & BARGAS, J. 2005. Different inhibitory inputs onto neostriatal projection neurons as revealed by field stimulation. *Journal of neurophysiology*, **93**(2), 1119–26.
- TECUAPETLA, F, CARRILLO-REID, L, BARGAS, J, & GALARRAGA, E. 2007a. Dopaminergic modulation of short-term synaptic plasticity at striatal inhibitory synapses. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **104**(24), 10258–10263.
- TECUAPETLA, F, CARRILLO-REID, L, BARGAS, J, & GALARRAGA, E. 2007b. Dopaminergic modulation of short-term synaptic plasticity at striatal inhibitory synapses. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **104**(24), 1–6.
- TECUAPETLA, F, KOOS, T, TEPPER, JM, KABBANI, N, & YECKEL, MF. 2009. Differential dopaminergic modulation of neostriatal synaptic connections of striatopallidal axon collaterals. *The journal of neuroscience*, **29**(28), 8977–8990.
- TEPPER, JM, & BOLAM, JP. 2004a. Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Current opinion in neurobiology*, **14**, 685–692.
- TEPPER, JM, & BOLAM, JP. 2004b. Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Current opinion in neurobiology*, **14**, 685–692.
- TEPPER, JM, KOOS, T, & WILSON, CJ. 2004. *GABAergic microcircuits in the neostriatum*.
- TEPPER, JM, WILSON, CJ, & KOOS, T. 2008. *Feedforward and feedback inhibition in neostriatal GABAergic spiny neurons*.
- TEPPER, JM, TECUAPETLA, F, KOOS, T, & IBANEZ-SANDOVAL, O. 2010. Heterogeneity and diversity of striatal gabaergic interneurons. *Frontiers in neuroanatomy*, **4**.
- THOMSON, AM. 2000. *Facilitation, augmentation and potentiation at central synapses*.

- THOMSON, AM, DEUCHARS, J, & WEST, DC. 1993. Single axon excitatory postsynaptic potentials in neocortical interneurons exhibit pronounced paired pulse facilitation. *Neuroscience*, **54**(2), 347–360.
- THOMSON, AM, WEST, DC, WANG, Y, & BANNISTER, AP. 2002a. Synaptic connections and small circuits involving excitatory and inhibitory neurons in layers 2-5 of adult rat and cat neocortex: triple intracellular recordings and biocytin labelling in vitro. *Cerebral cortex*, **12**, 936–953.
- THOMSON, AM, BANNISTER, AP, MERCER, A, & MORRIS, OT. 2002b. Target and temporal pattern selection at neocortical synapses. *Philosophical transactions of the royal society of london. series b, biological sciences*, **357**(1428), 1781–91.
- TRAUB, RD, BIBBIG, A, LEBEAU, FEN, BUHL, EH, & WHITTINGTON, MA. 2004. Cellular mechanisms of neuronal population oscillations in the hippocampus in vitro. *Annual review of neuroscience*, **27**, 247–278.
- TROMMERSHÄUSER, J, SCHNEGGENBURGER, R, ZIPPELIUS, A, & NEHER, E. 2003. Heterogeneous presynaptic release probabilities: functional relevance for short-term plasticity. *Biophysical journal*, **84**(March), 1563–1579.
- TSODYKS, M, & H, MARKRAM. 1997a. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **94**(January), 719–723.
- TSODYKS, M, & H, MARKRAM. 1997b. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, **94**(January), 719–723.
- UCHIGASHIMA, M, NARUSHIMA, M, FUKAYA, M, KATONA, I, KANO, M, & WATANABE, M. 2007. Subcellular arrangement of molecules for 2-arachidonoyl-glycerol-mediated retrograde signaling and its physiological contribution to synaptic modulation in the striatum. *The journal of neuroscience*, **27**(14), 3663–3676.
- UNGERSTEDT, U. 1968. 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *European journal of pharmacology*, **5**(1), 107–110.
- VAN DER KLOOT, W, & MOLGO, J. 1993. Facilitation and delayed release at about 0 degree C at the frog neuromuscular junction: effects of calcium chelators, calcium transport inhibitors, and okadaic acid. *Journal of neurophysiology*.
- VIZCARRA-CHACÓN, BJ, ARIAS-GARCÍA, MA, PÉREZ-RAMÍREZ, MB, FLORES-BARRERA, E, TAPIA, D, DRUCKER-COLIN, R, BARGAS, J, & GALARRAGA, E. 2013. Contribution of different classes of glutamate receptors in the corticostriatal polysynaptic responses from striatal direct and indirect projection neurons. *Bmc neuroscience*, **14**(1), 60.

- WANG, XJ, & BUZSAKI, G. 1996. Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *The journal of neuroscience*, **16**(20), 6402–6413.
- WANG, Y, MARKRAM, H, GOODMAN, PH, BERGER, TK, MA, J, & GOLDMAN-RAKIC, P.S. 2006. Heterogeneity in the pyramidal network of the medial prefrontal cortex. *Nature neuroscience*, **9**(4), 534–42.
- WANG, Y, O'DONOHUE, H, & MANIS, P. 2011. Short-term plasticity and auditory processing in the ventral cochlear nucleus of normal and hearing-impaired animals. *Hearing research*, **279**(1-2), 131–139.
- WATANABE, S, ROST, BR, CAMACHO-PÉREZ, M, DAVIS, MW, SÖHL-KIELCZYNSKI, B, ROSEN-MUND, C, & JORGENSEN, EM. 2013. Ultrafast endocytosis at mouse hippocampal synapses. *Nature*, **504**, 242–7.
- WHITTINGTON, MA, & TRAUB, RD. 2003. Interneuron diversity series: inhibitory interneurons and network oscillations in vitro. *Trends in neurosciences*, **26**(12), 676–682.
- WU, N, HSIAO, CF, & CHANDLER, SH. 2001. Membrane resonance and subthreshold membrane oscillations in mesencephalic V neurons: participants in burst generation. *The journal of neuroscience*, **21**(11), 3729–3739.
- XU, J, & WU, LG. 2005. The decrease in the presynaptic calcium current is a major cause of short-term depression at a calyx-type synapse. *Neuron*, **46**(4), 633–645.
- ZAITSEV, AV, POVYSHEVA, NV, LEWIS, DA, & KRIMER, LS. 2007. P/q-type, but not n-type, calcium channels mediate gaba release from fast-spiking interneurons to pyramidal cells in rat prefrontal cortex. *Journal of neurophysiology*, **97**(5), 3567–3573.
- ZUCKER, RS, & REGEHR, WG. 2002. Short-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology*, **64**(C), 355–405.