



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Instituto de Fisiología Celular
Doctorado en Ciencias Biomédicas

Efecto de los cambios de excitabilidad en la integración de la actividad eléctrica espontánea en el área CA3 del hipocampo

Tesis

que para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

presenta

Mario Treviño Villegas

Director de Tesis: Dr. Rafael Gutiérrez Aguilar



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.

Esta tesis doctoral fue dirigida y supervisada por el Dr. Rafael Gutiérrez Aguilar, profesor titular en el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), en México Distrito Federal. Constituye el trabajo que desarrollé como parte del Doctorado en Ciencias Biomédicas, con sede en el Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), durante los años 2002-2007. A lo largo de este periodo, conté con una beca de doctorado directo otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, No. 173126) y un complemento de beca por parte de la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) de la UNAM.

AGRADECIMIENTOS

**Al Doctor Rafael Gutiérrez Aguilar por la disciplina,
la formación científica y la dirección de mi doctorado.**

AGRADECIMIENTOS

A los miembros de mi comité tutorial, los Drs. (en orden alfabético): Federico Bermúdez-Rattoni y Carlos Paz Tres por sus comentarios y sugerencias durante el desarrollo de mis estudios de doctorado.

A los investigadores miembros del jurado, los Drs. (en orden alfabético): José Bargas Díaz, Rafael Gutiérrez Aguilar, Miguel Ángel Morales Mendoza, Carlos Paz Tres, José Fernando Peña Ortega, Ranulfo Romo Trujillo y Ricardo Tapia Ibarguengoytia, por la retroalimentación al presente texto.

A los Drs. Humberto Salgado y Marco Atzori de la Universidad de Texas, por recibirme en su casa y en su laboratorio; por compartir conmigo sus conocimientos; a H.S. por sus comentarios y sugerencias al presente texto. Muchas gracias.

Al Dr. Alfredo Kirkwood de la Universidad Johns Hopkins, en Baltimore, por dos intensos meses de plasticidad cortical.

Al Biol. José Ayala Dávila por su asistencia técnica para los experimentos que se desarrollaron en el período 2002-2004. A Benjamín Muñoz y a la Biol. Beatriz Osorio por su apoyo y asistencia técnica durante el doctorado. Al Ing. Alejandro García Moreno por su excelente asistencia en electrónica, en particular por el diseño y reparación de un preamplificador y un picoinyector, respectivamente. A Evaristo Ríos Cortés por su ayuda en la elaboración de piezas mecánicas que fueron empleadas para realizar algunos de los registros electrofisiológicos.

A mis compañeros de laboratorio por sus enseñanzas y por estar a mi lado. A la Dra. Carmen Vivar y al M.C. Jesús Beltrán por sus sugerencias al presente texto.

Al Ing. Luis Sención Moreno por el apoyo y la discusión sobre el diseño de software.

A Pía Iribarne, Hiram Flores, Karina y Nacho Orozco, Mónica Almeida, Alejandro Torres y Juan Pablo Acosta por su amistad y ayuda para que iniciara este proceso.

A Sara Noguera, del Instituto de Fisiología Celular y a Zenaida Martínez y a Angélica Téllez, de la Coordinación del Postgrado en Ciencias Biomédicas, por su excelente asistencia durante mi doctorado.

A CONACyT, UNAM y Fundación Telmex por el apoyo económico.

A la UNAM y al CINVESTAV por brindar el espacio y la atmósfera académica para mis estudios.

ÍNDICE

I	Agradecimientos	03
II	<i>Summary</i>	05
III	Resumen	07
IV	Introducción	10
V	El hipocampo	11
VI	Las fibras musgosas	16
VII	Balance excitación/inhibición	20
VIII	Ritmos γ hipocampales basados en la inhibición GABAérgica rápida	21
IX	Hipersincronía y crisis convulsivas	24
X	Fenotipo dual glutamatérgico/GABAérgico de las células granulares	27
XI	Registro de potenciales postsinápticos en el espacio extracelular	28
XII	Planteamiento de las hipótesis	31
XIII	Objetivos	32
XIV	Métodos	33
XV	Resultados	35
XVI	• Artículo: <i>GABAergic field potentials in CA3</i>	38
XVII	• Artículo: <i>GABAergic modulation of β/γ activity by mossy fibers</i>	49
XVIII	Discusión	58
XIX	Implicaciones funcionales	65
XX	Conclusiones	66
XXI	Bibliografía	68
XXII	Abreviaturas	94

SUMMARY

In principle, neural pathways utilize either glutamate for excitatory or GABA for inhibitory fast synaptic transmission. However, the hippocampal mossy fiber (MF) pathway, which is considered a glutamate-releasing neural projection, also expresses GABAergic markers after seizures. Here I show that when the GABAergic markers are expressed, MF activation produces GABA_A-receptor-mediated synaptic field responses in CA3, and GABA_A-receptor-mediated collateral inhibition. One-dimensional current source density analysis confirms the spatial coincidence of the depolarizing and hyperpolarizing extracellular dendritic currents, suggesting that the glutamatergic and GABAergic signals share the same origin, the MF. The GABA_A-receptor-mediated field responses have the physiological and pharmacological characteristics described for the MF-glutamatergic transmission: frequency-dependent facilitation and strong inhibition during activation of group-III metabotropic glutamate receptors (mGluR-III) which are present in the rat MF. It is therefore plausible that, for GABA_A-receptor-dependent field potentials to be detected, a considerable number of boutons of a well-defined GABAergic pathway should simultaneously release GABA to act on a large number of receptors. I provide further evidence showing that, in the presence of ionotropic glutamate receptor (iGluR) blockers, a conditioning electrical pulse delivered to one site of the dentate gyrus (DG) inhibits the population synaptic response and the afferent volley provoked by the activation of a second site, in a bicuculline-sensitive manner, thus indicating the presence of GABA_A receptors in the MF. In accordance with this hypothesis, DG antidromic responses evoked by MF activation are enhanced by GABA_A antagonists, suggesting that these receptors are subjected to a tonic activation. Given these results, it was reasonable to propose that if the MF pathway can release both glutamate and GABA, and that if GABA acts on pre- and postsynaptic sites, then this signaling should modify the hippocampal CA3 network activity after seizures. In this region, spontaneous β/γ (14-80 Hz) network oscillations originate by the recurrent excitation between pyramidal cells that are entrained by the synchronous rhythmic inhibition from local interneurons.

Hence, the CA3 network is thought to constitute an intrinsic γ activity generator, independent from extra-hippocampal sources. Confirming this hypothesis, I present evidence that indicates that in epileptic, but not in healthy rats, the DG exerts a GABA_A-receptor-mediated tonic inhibition of β/γ field oscillations that can be diminished by limiting the release of GABA from the MF through the activation of mGluR-III, thus potentiating the β/γ activity. These oscillations originate in the interneuron network because they are maintained in the presence of iGluR antagonists but are abolished by GABA_A receptor antagonists or by perfusion of a calcium-free extracellular medium. In agreement with previous reports, I show that after iGluR blockage, DG activation provokes monosynaptic GABA_A-receptor-mediated responses in pyramidal cells and interneurons from epileptic rats. Accordingly, these responses are presynaptically inhibited by mGluR-III agonists. Moreover, activation of mGluR-III produces an increase of spontaneous membrane subthreshold β/γ oscillations of *stratum lucidum* interneurons from epileptic but not from control rats. A tempting explanation is that MF-GABAergic spontaneous signaling interferes with the synchronous rhythmic inhibition generated by the local CA3 interneuron network. Indeed, the mGluR-sensitive modulation of β/γ activity can be observed in the presence of iGluR antagonists. Inhibition of this oscillatory activity requires intact DG-to-CA3 connections since disrupting the MF projection prevents, thus confirming, the presynaptic effects of mGluR activation. In addition, coincident stimulation of the DG at θ (4-10 Hz) and β/γ frequencies produces a frequency-dependent generation of action potentials in *stratum lucidum* interneurons, while this stimulation restrains action potential generation in pyramidal cells. Interestingly, the restraining action of MF activation on pyramidal neurons, after seizures, is more efficient when the DG is stimulated at the frequency that matches the mGluR-sensitive spontaneous CA3 β field oscillations, suggesting resonance between both GABAergic inputs. I conclude that the transient seizure-induced GABAergic signaling from the MF constitutes a physiologically relevant input that tonically modulates the network activity of CA3, preventing building up of excitation and possibly hampering memory storage after epileptic seizures.

RESUMEN

Comúnmente se considera que las neuronas utilizan un sólo neurotransmisor para mediar la transmisión química de acción rápida. Sin embargo, las células granulares del giro dentado (GD) del hipocampo de la rata, mono y humano, consideradas tradicionalmente como glutamatérgicas, también expresan marcadores del fenotipo GABAérgico. En la rata, estos marcadores se expresan transitoriamente durante el desarrollo y desaparecen en el adulto, pero son re-expresados después de períodos de intensa actividad *in vivo* (crisis epilépticas) e *in vitro*. En este trabajo muestro que, en ratas adultas de la cepa *Wistar* que tuvieron una o varias crisis convulsivas generalizadas, la estimulación eléctrica *in vitro* de las fibras musgosas (FM; los axones de las células granulares) en presencia de antagonistas a los receptores ionotrópicos a glutamato (iGluR), produce respuestas de campo eléctrico mediadas por la activación de receptores GABA_A (GABA_AR) en la zona CA3 del hipocampo. La estimulación eléctrica de las FM, produce en el *stratum lucidum* (SL) de CA3 dos tipos de corrientes dendríticas extracelulares: una que es bloqueada antagonistas a los iGluR y otra por antagonistas a los GABA_AR. El análisis de densidad de corriente en una dimensión revela que las corrientes correspondientes a las señales glutamatérgica y GABAérgica tienen el mismo origen, las FM. Más aún, las respuestas de campo mediadas por activación de GABA_AR presentan las mismas características fisiológicas y farmacológicas que se han descrito para la transmisión sináptica glutamatérgica de las FM: facilitación de las respuestas postsinápticas al incrementar la frecuencia de estimulación eléctrica del GD de 0.05 a 1 Hz e inhibición presináptica por la activación de receptores metabotrópicos de glutamato del grupo III (mGluR-III). Probablemente, el aislamiento farmacológico de este potencial de campo GABAérgico se debe a que: i) la estimulación de las FM produce una liberación masiva de GABA, ii) que activa un gran número de receptores, iii) y que éstos están localizados en una zona restringida. Adicionalmente muestro que, en presencia de antagonistas a iGluR, la respuesta de campo de la zona CA3 a la estimulación eléctrica de un sitio del GD, es inhibida si es precedida por la estimulación de otro sitio adyacente. Esto indica que la

liberación de GABA de las FM inhibe presinápticamente a otras FM colaterales y confirma la presencia de GABA_ARs en estas fibras. Por ello, el bloqueo de los GABA_AR con la bicuculina, un antagonista de éstos receptores, incrementa reversiblemente la amplitud de las respuestas antidrómicas registradas en el GD, y sugiere que los GABA_AR están sometidos a una activación tónica. Estos resultados permiten proponer que, después de producir crisis convulsivas generalizadas *in vivo*, el GABA sería liberado de las FM, activaría receptores pre- y postsinápticos, y esto produciría una modulación de la actividad espontánea de campo de CA3. En esta región, las oscilaciones de campo β/γ (14-80 Hz) se generan por la excitación glutamatérgica recurrente entre células piramidales que son inhibidas rítmicamente por interneuronas GABAérgicas locales. Por esta razón, se considera que el circuito local de CA3 conforma un generador intrínseco de actividad γ , independiente de entradas sinápticas extra-hipocampales. Confirmando esta hipótesis, muestro que en ratas epilépticas, pero no en ratas adultas control, las células granulares producen una inhibición tónica de las oscilaciones de campo β/γ de CA3 mediada por activación de GABA_AR. Esta inhibición tónica se evidencia al activar mGluR-III localizados en las FM lo que reduce su liberación de GABA y, en consecuencia, produce un incremento de la actividad β/γ . Más aun, estas oscilaciones se generan en la red de interneuronas locales de CA3 ya que persisten en presencia de antagonistas a los iGluR y son eliminadas por el bloqueo de GABA_AR o por la perfusión de un medio extracelular bajo en calcio. De acuerdo con reportes previos, muestro que en presencia de antagonistas a los iGluR, la estimulación eléctrica del GD produce respuestas GABAérgicas monosinápticas en células piramidales e interneuronas de animales que tuvieron una o varias crisis convulsivas generalizadas. Estas respuestas son inhibidas presinápticamente por la activación de mGluR-III. Asimismo, la activación de estos receptores produce un incremento de las oscilaciones subumbrales de membrana de interneuronas localizadas en el SL de CA3 de animales epilépticos, pero no de ratas adultas control. Una posible explicación al fenómeno que describo, es que la acción del GABA proveniente de las FM interfiere con la inhibición rítmica y sincrónica generada por la red local de interneuronas de CA3. La inhibición de esta actividad oscilatoria requiere de conexiones intactas

entre GD y CA3 puesto que el corte transversal de la proyección de las FM impide observar el efecto desinhibidor mediado por la activación de mGluR-III. La modulación de las oscilaciones β/γ por activación de mGluR también se observa en presencia de antagonistas a los iGluR y es eliminada por la bicuculina. Finalmente, muestro que la estimulación repetida del GD a frecuencias θ (4-10 Hz) y β/γ produce, en ratas que tuvieron crisis convulsivas, una mayor cantidad de potenciales de acción por tren de estímulos en las interneuronas localizadas en el *SL*, mientras que en las células piramidales hay una menor cantidad, ambas comparadas con preparaciones obtenidas de ratas control. De manera interesante, la probabilidad para inducir potenciales de acción en las células piramidales es mínima cuando se estimula al GD a la misma frecuencia β que es potenciada por la activación de mGluR, lo que sugiere resonancia entre ambas entradas GABAérgicas. Concluyo que la señalización GABAérgica proveniente de las FM, después de crisis convulsivas, constituye una señal fisiológica relevante que modula tónicamente a la actividad de CA3, posiblemente impidiendo un mayor aumento de excitación. Ésta señal inhibitoria aberrante podría subyacer a los problemas de retención y consolidación de memoria que se presentan después de las crisis convulsivas.

INTRODUCCIÓN

Durante el desarrollo, las células granulares del giro dentado (GD) del hipocampo, consideradas como glutamatérgicas (Crawford & Connor, 1972), contienen el ARNm del transportador vesicular para GABA (VGAT) y expresan a la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD_{67}), que sintetiza GABA *de novo* (revisado en Gutierrez, 2003; 2005). Estos marcadores del fenotipo GABAérgico, son apenas detectados en la rata adulta (Sandler & Smith, 1991; Sloviter *et al.*, 1996), pero se expresan abundantemente después de crisis convulsivas (Schwarzer & Sperk, 1995; Sloviter *et al.*, 1996; Lehmann *et al.*, 1996; Ramirez & Gutierrez, 2001; Gomez-Lira *et al.*, 2002; Gutierrez, 2003; Maqueda *et al.*, 2003). Cuando el fenotipo GABAérgico se expresa en estas células, la activación de sus axones, las fibras musgosas (FM), produce respuestas monosinápticas glutamatérgicas y GABAérgicas en sus células blanco localizadas en la región CA3 del hipocampo: células piramidales e interneuronas (Gutierrez, 2000; Gutierrez & Heinemann, 2001; Walker *et al.*, 2001; Gutierrez, 2002; Romo-Parra *et al.*, 2003; Gutierrez *et al.*, 2003; Bergersen *et al.*, 2003; Kasyanov *et al.*, 2004). Estas observaciones confrontan la idea de que las FM constituyan una vía exclusivamente excitadora en el hipocampo. Por ello, decidimos investigar si las FM pueden funcionar también como una proyección inhibitoria (GABAérgica) sobre CA3. Más aun, estudios recientes indican que, aunado a su función inhibitoria, la hiperpolarización mediada por la activación de receptores $GABA_A$ ($GABA_A R$) participa en la sincronización de las oscilaciones β/γ (14-80 Hz) de la zona CA3/CA1 del hipocampo (revisado en Bartos *et al.*, 2007). De manera interesante, las oscilaciones γ producidas por las redes intrahipocampales han sido implicadas en diversas funciones cognitivas (Freund & Buzsaki, 1996), pero se desconoce el efecto que tiene la señalización GABAérgica proveniente de las FM sobre dicha actividad. En consecuencia, dado que el GD constituye un relevo sináptico entre la actividad cortical y el hipocampo, consideramos relevante estudiar el impacto que tiene la cotransmisión de glutamato y GABA de las células granulares del GD sobre la actividad eléctrica poblacional, evocada y espontánea, registrada en la zona CA3 de rebanadas de hipocampo de rata *in vitro*.

EL HIPOCAMPO

La corteza cerebral de los mamíferos está dividida para su estudio en neocorteza (o isocorteza; v.gr. prefrontal, somatosensorial, visual), paleocorteza (v.gr. corteza entorrinal, perirrinal) y arquicorteza o hipocampo (Eichenbaum, 2000). Prácticamente todos los módulos neocorticales proyectan hacia las cortezas perirrinal y entorrinal, mismas que proyectan hacia el hipocampo (figura 1), considerado como la última estructura asociativa cortical (Felleman & Van Essen, 1991; Van Essen & Gallant, 1994). El hipocampo forma parte del lóbulo temporal (los mamíferos tienen dos hipocampos, uno por cada hemisferio) y participa en el procesamiento de información sensorial y su almacenamiento en memoria (Nadasdy *et al.*, 1999; Ekstrom *et al.*, 2003; Ikegaya *et al.*, 2004). Las principales salidas del hipocampo regresan al subículum y a las capas profundas de la corteza entorrinal que comanda la información procesada de vuelta a la corteza (Van Essen & Gallant, 1994; Rolls, 2000; Buzsaki, 2006; Isomura *et al.*, 2006; Ji & Wilson, 2007). Por esta razón, el hipocampo puede conceptualizarse como un apéndice del amplio manto cortical, con tráfico bidireccional (Buzsaki, 1996; 2006). Estas proyecciones permiten que, por ejemplo, durante el sueño profundo o bajo anestesia, los patrones de actividad espontánea que presentan las neuronas neocorticales, atraviesen la corteza entorrinal y lleguen hasta el hipocampo (Isomura *et al.*, 2006). La organización estructural y de proyecciones de la formación hipocámpal ha sido ampliamente reportada (Claiborne *et al.*, 1986; Amaral & Witter, 1989; Claiborne *et al.*, 1990; Johnston D. & Amaral D.G., 1998; Eichenbaum, 2000; Vinogradova, 2001; Forster *et al.*, 2006).

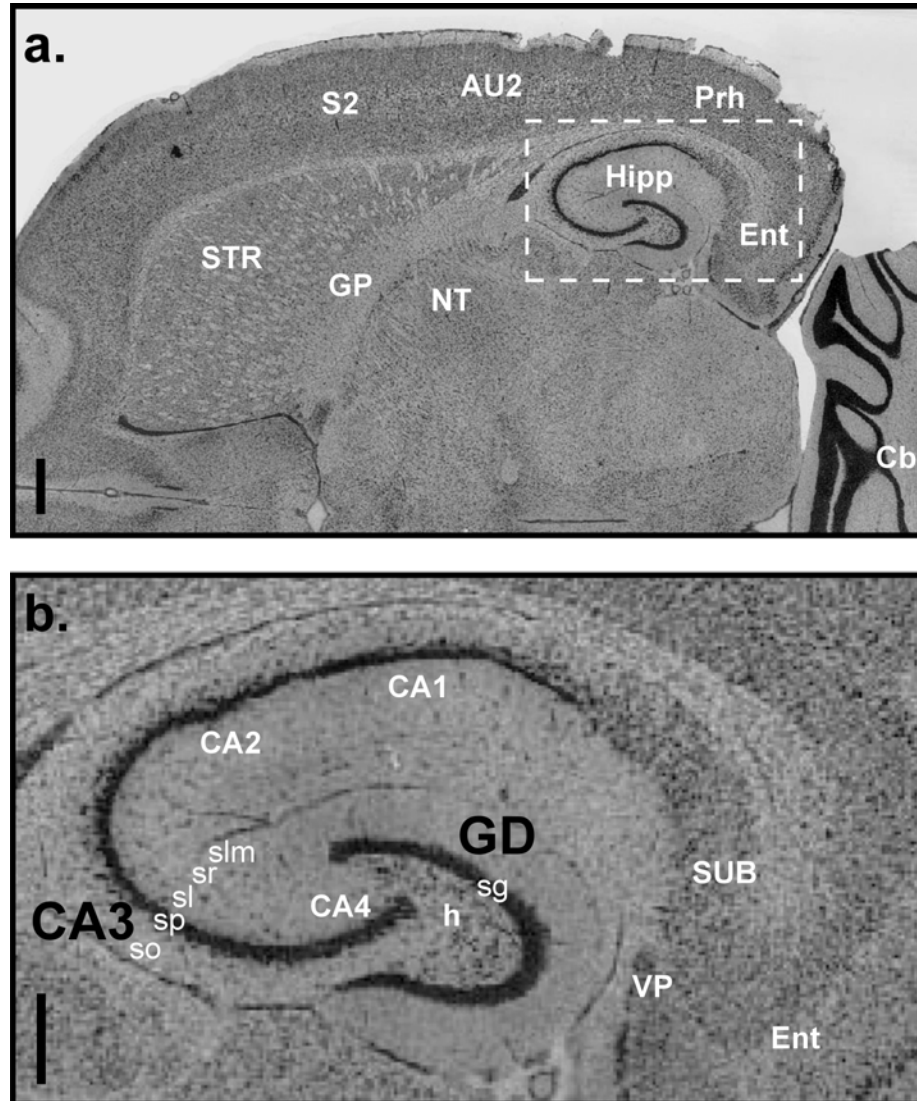


Figura 1. La formación hipocampal. **a).** Fotografía de una rebanada horizontal de cerebro de rata adulta (Bregma -5.82 mm) teñida con violeta de cresilo (para identificar los cuerpos celulares de neuronas y células gliales). En el corte se identifican estructuras como el estriado (**STR**), el globo pálido lateral (**GP**), el núcleo talámico (**NT**) y el cerebelo (**Cb**). En la porción lateral del corte (parte superior de la fotografía), se localizan la corteza somatosensorial (**S2**) y auditiva secundarias (**AU2**), así como la corteza perirrinal (**Prh**) y entorrinal (**Ent**). En línea punteada se encuadra la formación hipocampal (**Hipp**). Barra de calibración 1 mm. **b).** Una ampliación del recuadro que abarca la formación hipocampal permite observar dos capas teñidas que corresponden a los somas de las células granulares (localizados en el stratum granulosum; **sg**) del giro dentado (**GD**) y a los de las células piramidales (localizados en el stratum piramidale; **sp**) del Cuerno de Ammon (**CA1-4**). Las dendritas apicales de las células piramidales de **CA3** se prolongan a lo largo del stratum lucidum (**sl**), radiatum (**sr**) y lacunosum-moleculare (**slm**) mientras que sus dendritas basales lo hacen hacia el stratum oriens (**so**). La distribución heterogénea de la tinción en el hilus (**h**), corresponde probablemente a los somas de células musgosas e interneuronas locales. Se indica también la localización de la corteza entorrinal (**Ent**), el subículo (**SUB**) y la vía perforante (**VP**). Barra de calibración 500 μ m. (Figura adaptada de Paxinos & Watson, 1998).

Evidencia experimental *in vivo* indica que el hipocampo participa en el procesamiento de información sensorial y en la formación de memorias relacionadas con la navegación espacial, indispensable para muchos de los repertorios conductuales (motrices) que permiten que los animales se desenvuelvan en el espacio (Wilson & McNaughton, 1993; Ekstrom *et al.*, 2003; Nakazawa *et al.*, 2003; Foster & Wilson, 2006). A partir de registros extracelulares de la actividad de disparo (unitaria) de neuronas de roedores (O'Keefe, 1976), murciélagos (Ulanovsky & Moss, 2007) y humanos (Skaggs & McNaughton, 1996; Ekstrom *et al.*, 2003) se ha propuesto que algunas células piramidales del hipocampo (llamadas “*place-cells*”) codifican en su patrón de disparo la posición relativa del animal en su entorno (O'Keefe & Recce, 1993) y que estas células, en conjunto, generan una representación neuronal del entorno visual (O'Keefe & Dostrovsky, 1971). Se ha sugerido, además, que la repetición de los patrones de disparo de las *place-cells* del hipocampo durante el sueño (Skaggs & McNaughton, 1996) o cuando el animal está en reposo (Foster & Wilson, 2006) facilita diversos formatos de plasticidad sináptica (Skaggs & McNaughton, 1996) y la consolidación de memoria episódica (Eichenbaum *et al.*, 1999; Wood *et al.*, 1999; Nadasdy *et al.*, 1999).

Al igual que el resto de la corteza cerebral (Peters *et al.*, 1985; Peters & Kara, 1985a; 1985b; McCormick *et al.*, 1993; Gupta *et al.*, 2000; Tsiola *et al.*, 2003), el hipocampo de los mamíferos contiene células piramidales glutamatérgicas (Miles, 1990; Ishizuka *et al.*, 1990; 1995) e interneuronas GABAérgicas (Somogyi *et al.*, 1983; Sik *et al.*, 1995; Freund & Buzsaki, 1996; Miles *et al.*, 1996; Freund & Gulyas, 1997; Sik *et al.*, 1997; Somogyi & Klausberger, 2005; Bartos *et al.*, 2007). La transmisión excitadora glutamatérgica utiliza dos tipos de receptores: los ionotrópicos y los metabotrópicos. Los receptores ionotrópicos a glutamato tipo AMPA (AMPA) y tipo NMDA (NMDAR), poseen propiedades farmacológicas y biofísicas diferentes y producen una señalización excitadora rápida mediada por la generación de potenciales postsinápticos despolarizantes (Miles *et al.*, 1996). Estos receptores son canales catiónicos permeables a sodio (Na^+) y a calcio (Ca^{2+}) (Mayer & Westbrook, 1987; Hollmann & Heinemann, 1994). Asimismo, los receptores a kainato son receptores ionotrópicos a glutamato y su activación se asocia con respuestas postsinápticas despolarizantes (Contractor *et al.*, 2000), con excitación

presináptica de las FM (Kamiya & Ozawa, 2000; Schmitz *et al.*, 2001) y con inhibición presináptica de interneuronas GABAérgicas (Dingledine *et al.*, 1999). El glutamato puede también actuar sobre receptores metabotrópicos (mGluR) que están acoplados a sistemas de segundos mensajeros y se dividen en tres grupos: I, II y III (Pin & Duvoisin, 1995). La activación de estos receptores puede producir un control de la liberación de glutamato mediante inhibición presináptica empleando diferentes mecanismos: i) por una reducción de las conductancias de Ca^{2+} dependientes de voltaje (Kamiya & Ozawa, 1999), ii) por activación de corrientes de K^+ presinápticas (Conn & Pin, 1997) o iii) por interferencia con la maquinaria de liberación (Scanziani *et al.*, 1995). Similarmente, la señalización GABAérgica es resultado de la activación de dos tipos de receptores: los receptores ionotrópicos tipo GABA_A (GABA_AR), canales aniónicos permeables a cloruro (Cl^-) y a bicarbonato (HCO_3^-) (Bormann *et al.*, 1987; Kaila, 1994) y los tipo GABA_B (GABA_BR), receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G que al activarse modulan corrientes lentas de K^+ (Bormann, 1988). Una categoría adicional de GABAR, los GABA_CR , no serán abordados en este trabajo (revisados en Barnard *et al.*, 1998).

A diferencia de la población relativamente homogénea de células piramidales del hipocampo (Amaral & Witter, 1989; Ishizuka *et al.*, 1995), las interneuronas son excepcionalmente diversas en su morfología, contenido de péptidos y proteínas moduladas por Ca^{2+} intracelular y propiedades biofísicas (Freund & Buzsaki, 1996; Kawaguchi & Kubota, 1997; Parra *et al.*, 1998; Somogyi *et al.*, 1998; Gupta *et al.*, 2000; McBain & Fisahn, 2001; Maccaferri & Lacaille, 2003) así como en los patrones de conectividad que presentan con las células piramidales y con otras interneuronas vecinas (Sik *et al.*, 1995; Freund & Buzsaki, 1996; Somogyi & Klausberger, 2005). Debido, probablemente, a los altos costos metabólicos que se requieren para construir y mantener funcionando a las proyecciones axonales de largo alcance (Buzsaki *et al.*, 2004; 2006), el cableado local de la mayoría las interneuronas hipocampales se restringe a un radio de $\sim 300 \mu\text{m}$ a la redonda (Sik *et al.*, 1995; ver también Watts & Strogatz, 1998). Una aparente relación recíproca entre el número de interneuronas de la región CA1 del hipocampo y el número de contactos postsinápticos que poseen, sustenta esta idea (Sik *et al.*, 1995; Buzsaki *et al.*, 2004). Es decir, las

interneuronas del hipocampo son, en su gran mayoría, neuronas de “proyección local”. Este arreglo promueve que interneuronas cercanas compartan algunas entradas sinápticas y procesen información similar. Las interacciones sinápticas dentro de una escala espacial de hasta 2 milímetros, suelen ser recíprocas y pueden ser directas (monosinápticas) o indirectas (polisinápticas) (Van Essen *et al.*, 1992), permitiendo que la actividad de disparo celular se sincronice en un modo de resonancia común (Gray, 1999). Por ello, registros extracelulares cercanos ($\leq 500 \mu\text{m}$) hechos en el hipocampo de la rata adulta, presentan correlaciones espaciales y temporales altas (v.gr. Shimono *et al.*, 2000; Henze *et al.*, 2000; Mann *et al.*, 2005b).

Una propiedad adicional que tienen las células del hipocampo es que poseen resonancia *intrínseca* subumbral (Pike *et al.*, 2000). Esto se debe a que ciertas interacciones no-lineales entre las conductancias de diferentes familias de canales iónicos pueden manifestarse generando oscilaciones subumbrales en el potencial de la membrana celular (Llinas, 1988; Makarenko & Llinas, 1998; Hu *et al.*, 2002) y esto regula el ritmo preferente con que las células disparan sus potenciales de acción. Es importante mencionar que las oscilaciones subumbrales poseen también un componente que se genera a partir de la actividad sináptica que converge sobre la membrana de las células (Destexhe & Pare, 1999; Rudolph *et al.*, 2005; Hasenstaub *et al.*, 2005; Oren *et al.*, 2006; Haider *et al.*, 2006; Rudolph *et al.*, 2007). La “fracción” intrínseca de las oscilaciones subumbrales se aísla mediante el bloqueo de los receptores sinápticos y su frecuencia característica se puede determinar mediante una técnica experimental que mide la resonancia de las neuronas (Puil *et al.*, 1986; Pape & Driesang, 1998; Hutcheon & Yarom, 2000). La resonancia es el fenómeno que se observa cuando la amplitud de respuesta de un sistema que oscila se amplifica al estimularlo a su frecuencia natural de oscilación (Crowell, 1998). Cuando una neurona se perturba rítmicamente a su frecuencia de resonancia, los flujos de corriente transmembranal se convierten eficientemente en variaciones del potencial de membrana incrementando la probabilidad de que ésta produzca potenciales de acción a esa misma frecuencia (Hutcheon & Yarom, 2000). Por tanto, el potencial de membrana de las neuronas con oscilaciones intrínsecas actúa como un filtro de aquellas frecuencias que

son diferentes a su frecuencia de resonancia. En el hipocampo de la rata, las células piramidales resuenan intrínsecamente en un rango de baja frecuencia (2.4 ± 0.5 Hz) (Leung & Yu, 1998; Pike *et al.*, 2000; Hu *et al.*, 2002), mientras que las interneuronas en cesta, de proyección perisomática, poseen resonancia subumbral intrínseca en la banda β/γ (26 ± 5 Hz), sensible al bloqueo de canales de Na^+ (con tetrodotoxina, $1\mu\text{M}$; Pike *et al.*, 2000). De esta forma, las interneuronas en cesta típicas responden con mayor precisión temporal a las entradas que acontecen en frecuencias en la banda γ , mientras que las células piramidales responden confiablemente a entradas sinápticas que ocurren con frecuencias mucho menores (Hutcheon *et al.*, 1996; Hutcheon & Yarom, 2000; Pike *et al.*, 2000; Fellous *et al.*, 2001; Markram *et al.*, 2004). Notablemente, la caracterización de la resonancia de otros subtipos de interneuronas del hipocampo no se ha hecho aún.

LAS FIBRAS MUSGOSAS

La información proveniente de la corteza entorrinal se transmite a la zona CA3 del hipocampo directamente a través de la vía perforante (Johnston D. & Amaral D.G., 1998) e, indirectamente, una vez que tiene un relevo sináptico con las células granulares del giro dentado (GD; figura 1), a través de la proyección de sus axones, las fibras musgosas (FM; Crawford & Connor, 1973). Las FM contactan a células piramidales (Blackstad & Kjaerheim.A., 1961; Urban *et al.*, 2001) e interneuronas del *hilus* y de CA3 (Amaral, 1979; Amaral & Dent, 1981; Frotscher, 1985; Frotscher *et al.*, 1994). Estas últimas, a su vez, proyectan a las células piramidales, conformando así el sistema de inhibición proactiva de CA3.

Las FM parten del *hilus* y viajan hacia el área CA3 en una capa estrecha llamada *stratum lucidum* (SL; figura 1) donde contactan el tercio proximal de las dendritas apicales de las células piramidales de CA3 (Brown & Johnston, 1983). En este sitio, cada FM hace sinapsis con $\sim 11-18$ células piramidales y con $\sim 40-50$ interneuronas cuyas dendritas se localizan también en el SL (Claiborne *et al.*, 1986; Acsady *et*

al., 1998). Dado que las células granulares son glutamatérgicas (Crawford & Connor, 1972), la sinapsis de las FM con sus células blanco en CA3, constituye una proyección excitadora, restringida y localizada (Gloot *et al.*, 1963; Brown & Johnston, 1983). Más aun, las terminales de las FM que inervan a las interneuronas y a las células piramidales difieren funcional- (Lawrence *et al.*, 2004) y anatómicamente (Acsady *et al.*, 1998). Distintos procesos axonales identificados en las FM han sido agrupados en tres categorías: botones gigantes (4-10 μm de diámetro) que forman sinapsis con interneuronas del *hilus* y con las dendritas proximales de las células piramidales de CA3 (Amaral & Dent, 1981; Acsady *et al.*, 1998) y terminales de paso (“*en passant*”; 0.5-1.5 μm de diámetro) y filopodios (0.5-2 μm de diámetro; se extienden a partir de los botones gigantes), que inervan preferentemente a las interneuronas del *SL* de CA3 (Acsady *et al.*, 1998). La desigualdad estructural, numérica y funcional de los contactos de las FM hacia las neuronas de CA3 permite que la estimulación eléctrica extracelular de baja intensidad de las células granulares produzca, en las células piramidales y en algunas interneuronas, respuestas sinápticas compuestas: una combinación de un EPSP monosináptico, seguido de un IPSP rápido y de corta duración mediado por la activación de GABA_AR y otro lento, mediado por la activación de GABA_BR (Lacaille, 1991; Cobb *et al.*, 1997). Los IPSPs producidos en CA3 por la activación de las FM son polisinápticos ya que se deben al GABA liberado por las interneuronas reclutadas por la excitación proveniente de las FM (Lacaille, 1991; Cobb *et al.*, 1997). Debido a este arreglo, los IPSPs así evocados son bloqueados por los antagonistas a los iGluR (McCormick *et al.*, 1993; Gutierrez, 2002).

La secuencia EPSP/IPSP registrada en células piramidales de CA3 tras la activación de las FM indica que la estimulación eléctrica de baja intensidad de las células granulares, que produce un EPSP glutamatérgico en las células piramidales, es suficiente para inducir potenciales de acción en, por lo menos, algunas interneuronas GABAérgicas responsables de la inhibición disináptica registrada (Miles, 1990; McCormick *et al.*, 1993). Aunado a los elementos presinápticos que mantienen elevada la señalización de las FM sobre las interneuronas de CA3, el reclutamiento de las interneuronas se facilita respecto al de las células piramidales, debido a que: i) poseen alta densidad de AMPAR (~400% de lo

reportado para las células piramidales; Nusser *et al.*, 1998), algunos permeables a Ca^{2+} (Toth & McBain, 1998; Toth *et al.*, 2000), lo que incrementa considerablemente la conductancia excitadora, ii) tienen mayor resistencia de entrada (Spruston *et al.*, 1997; Vida & Frotscher, 2000; Romo-Parra *et al.*, 2003) y iii) son electrofisiológicamente más compactas (Spruston & Johnston, 1992). Asimismo, las interneuronas de proyección perisomática (interneuronas en cesta), que constituyen la población más numerosa de interneuronas en el hipocampo (Buzsáki *et al.*, 2004), poseen proyecciones muy divergentes que contactan ~1000-3000 células postsinápticas (Li *et al.*, 1992; Buhl *et al.*, 1994) y pueden producir ráfagas de potenciales de acción a frecuencias muy superiores a las de las células piramidales. De esta forma, la activación de las interneuronas GABAérgicas por el glutamato proveniente de las FM produce un fuerte control proactivo de la excitabilidad de CA3. A bajas frecuencias de estimulación eléctrica del GD (≤ 0.05 Hz), la activación de las FM resulta en una inhibición neta del disparo de potenciales de acción de las células piramidales de CA3 (Bragin *et al.*, 1995b; Penttonen *et al.*, 1997).

Un control adicional de los efectos excitadores de las FM es mediado por mecanismos de auto-inhibición y de inhibición colateral. La expresión de receptores metabotrópicos a glutamato (mGluR) del grupo II y III en las FM (Kamiya *et al.*, 1996; Shigemoto *et al.*, 1996; 1997; Kamiya & Ozawa, 1999), permite que al ser activados, se inhiba presinápticamente la liberación de glutamato sobre las células blanco (Lanthorn *et al.*, 1984; Manzoni *et al.*, 1995; Shigemoto *et al.*, 1996; Maccaferri *et al.*, 1998). Sin embargo, la afinidad del glutamato por estos receptores es baja (~10 μM -1mM) lo que indica que las concentraciones de glutamato requeridas para activar estos receptores ocurren solamente durante los periodos de estimulación repetida (Lawrence & McBain, 2003) o, en todo caso, mediante el uso de agonistas más específicos.

Se ha sugerido que las interacciones sinápticas que acontecen en el GD permiten que esta estructura funcione como una compuerta que limita (Heinemann *et al.*, 1992) y regula (Buzsáki, 1989; Urban *et al.*, 2001) el tráfico de actividad cortical hacia CA3. Este mecanismo podría deberse: i) a

modificaciones sinápticas o intrínsecas de membrana en células granulares (Heinemann *et al.*, 1992) e interneuronas localizadas en el mismo GD (Johnston D. & Amaral D.G., 1998), ii) a una regulación dinámica de las conductancias sinápticas sobre los blancos celulares en CA3 (Buzsaki, 1989; Isomura *et al.*, 2006) o incluso iii) a un mecanismo de plasticidad de largo plazo que redefine por completo la señalización sináptica del GD sobre CA3 (Gutierrez, 2003; 2005). Aparentemente, la actividad del GD afecta a CA3 con dos formatos. Cuando las células granulares se activan a frecuencias γ , por las entradas provenientes de la corteza entorrinal, transmiten información neocortical a través de las FM hacia blancos selectos de células piramidales en CA3 (Henze *et al.*, 2002) mientras que al mismo tiempo suprimen la actividad de la población restante al reclutar al mecanismo de inhibición proactiva (Acsady *et al.*, 1998). Sin embargo, cuando la actividad neocortical disminuye, las células granules no se activan en la misma proporción. Esto “libera” a CA3 del fuerte control de inhibición proactiva y permite que los circuitos de CA3/CA1 produzcan oscilaciones γ de manera “espontánea” o endógena (i.e. que no existe evidencia de un agente externo sensorial que la genere; Llinas *et al.*, 1998). Quizá por esto último, la remoción quirúrgica de la corteza entorrinal incrementa aun más la potencia de las oscilaciones γ en la región CA3 (Bragin *et al.*, 1995a). Se plantea entonces que el hipocampo puede operar de forma dependiente e independiente de la neo/paleocorteza. El sistema CA3/CA1 constituiría un oscilador γ intrínseco modulado por las oscilaciones lentas provenientes del GD. Esto último expande la noción sobre la función de las células granulares del hipocampo. Sus axones, las FM, son mucho más que un sistema de relevo que, por medio de mecanismos glutamatérgicos, transmita información cortical hacia CA3. Dadas las cualidades morfológicas y biofísicas de las células granulares, resulta razonable pensar que el estudio de la función del GD es crítico para comprender la función del hipocampo. Paradójicamente, son las funciones de las células granulares del GD y sus complejas interacciones con los circuitos de CA3 las que menos se conocen en el hipocampo (Buzsaki, 1989; 2006).

BALANCE EXCITACIÓN/INHIBICIÓN

El correcto funcionamiento de las redes neuronales depende de un fino balance entre la excitación y la inhibición. En el hipocampo este balance se mantiene fundamentalmente mediante un sistema de retroalimentación negativa (recurrente) y otro de retroalimentación positiva (proactivo) aportado por el ensamble de interneuronas inhibitoras (GABAérgicas). Ambos sistemas activan GABA_ARs que producen un influjo de Cl⁻ al interior de las células (en el animal adulto, el potencial de inversión de las respuestas GABAérgicas es ~10 mV negativo respecto al potencial de membrana en reposo, de unos -64 mV, de las células piramidales; Misgeld & Frotscher, 1986; Lacaille & Schwartzkroin, 1988; Lacaille, 1991; Buhl *et al.*, 1995). De no existir estos sistemas de inhibición, particularmente en la región CA3, donde el número de proyecciones recurrentes excitadoras es alto (Turski *et al.*, 1983; Ben Ari, 1985; Rougier *et al.*, 1992; Du *et al.*, 1995; Avoli *et al.*, 2002), cualquier incremento en la excitación externa, o disminución de la inhibición interna, podría generar una avalancha de actividad que promovería el reclutamiento de la población entera de células piramidales excitadoras (Hopfield & Tank, 1986; McCormick *et al.*, 1993). Más aun, las redes inhibitoras son altamente sensibles a la arquitectura y a los pesos sinápticos (Wang & Buzsaki, 1996; Traub *et al.*, 1998; Aradi & Soltesz, 2002). Esto permite que el ensamble de interneuronas opere de manera no lineal y se pueda inhibir alternadamente lo que, en algunos casos, puede manifestarse como una desinhibición neta del circuito. Es decir, la función inhibitora de un grupo de interneuronas puede ser silenciada o atenuada por otras entradas inhibitoras, comprometiendo así, la excitabilidad del hipocampo (Bilkey & Goddard, 1985). Sin embargo, en condiciones fisiológicas, el disparo de las células piramidales, viene acompañado de un incremento significativo de la frecuencia de disparo de las interneuronas, y éstas limitan eficientemente la salida de las primeras (Gulyas *et al.*, 1993; McCormick *et al.*, 1993; Csicsvari *et al.*, 1998). Los efectos postsinápticos excitadores de una célula piramidal son, en general, compensados con el número total de potenciales postsinápticos inhibitorios que recibe a cambio (Nusser & Mody, 2002; Mody & Pearce, 2004). De esta forma, la efectividad de la inhibición perisomática a través de GABA_AR es rotunda y silencia por completo a las células blanco durante decenas

de milisegundos (>30 ms; Kaila, 1994; Mody & Pearce, 2004; Jonas *et al.*, 2004). Entonces, los patrones específicos de disparo de las células piramidales hipocampales dependen de la distribución espacial y temporal de la inhibición (Hajos *et al.*, 2004; Somogyi & Klausberger, 2005; Mann *et al.*, 2005b). Ante un mismo estímulo, las redes neuronales pueden producir diferentes patrones de salida dependiendo del contexto de la inhibición (McCormick *et al.*, 1993; Buzsaki & Chrobak, 1995). De forma interesante, si una interneurona dispara potenciales de acción regularmente, la activación rítmica de sus sinapsis genera fluctuaciones periódicas del potencial de membrana de sus células blanco (Destexhe & Pare, 1999; Rudolph *et al.*, 2005; Hasenstaub *et al.*, 2005; Oren *et al.*, 2006; Haider *et al.*, 2006; Rudolph *et al.*, 2007). Si muchas interneuronas disparan potenciales de acción de manera regular y sincrónica, esta señal de salida es amplificada y origina ventanas de excitabilidad incrementada/reducida en una población, aun más grande, de células blanco (Wang & Buzsaki, 1996). En ciertos escenarios, la estabilización mediada por los mecanismos de inhibición recurrente viene acompañada de oscilaciones en el potencial de membrana y en la actividad de disparo de las células contenidas en el circuito (Traub *et al.*, 1999; 2000). Precisamente, los ritmos hipocampales emergen y persisten cuando las corrientes positivas y negativas se equilibran fundamentalmente por la arquitectura y la segregación de los pesos sinápticos (Wang & Buzsaki, 1996; Bartos *et al.*, 2002; Buzsaki *et al.*, 2004), entre otros factores.

RITMOS γ HIPOCAMPALES BASADOS EN LA INHIBICIÓN GABAÉRGICA RÁPIDA

Los ritmos γ (30-80 Hz) fueron descubiertos a inicios del siglo pasado en el sistema olfativo del conejo por Lord Adrian (1925; ver Hodgkin, 1977). Su estudio fue abandonado durante muchos años, pero reinaugurado en la década de 1990 (Gray & Singer, 1989; Engel *et al.*, 1990; Kreiter & Singer, 1992). Una de las hipótesis actuales sugiere que la sincronía en esta banda de frecuencia sirve como mecanismo para “integrar” la actividad de neuronas de diferentes módulos –encargados de procesar segregadamente distintos atributos de un estímulo sensorial– en ensambles operativos que subyacen a la percepción del

estímulo (Freund & Buzsaki, 1996; Roelfsema *et al.*, 1997; Traub *et al.*, 1998; Rodriguez *et al.*, 1999; von Stein *et al.*, 2000). De forma interesante, algunos de los fármacos que modifican la función de las sinapsis inhibitoras, como el propofol y el midazolam, desarticulan la operación cortical y disminuyen la amplitud de las oscilaciones γ requeridas para sustentar los procesos cognitivos (Madison & Nicoll, 1988; Kulli & Koch, 1991; Faulkner *et al.*, 1998; Whittington *et al.*, 1998; Faulkner *et al.*, 1999; Baker *et al.*, 2002). Asimismo, se ha confirmado que el bloqueo de los GABA_AR desincroniza las oscilaciones γ corticales (MacLeod & Laurent, 1996; Laurent, 2002). En línea con lo anterior, registros hechos en hipocampo *in vivo* e *in vitro*, muestran que la mayor parte de la potencia γ extracelular es producida por la actividad de disparo de interneuronas en cesta positivas a parvalbúmina (una proteína que une al Ca²⁺; Buzsaki *et al.*, 1983; Kawaguchi *et al.*, 1987; Kosaka *et al.*, 1987; Bragin *et al.*, 1995a; Freund & Buzsaki, 1996; Fisahn *et al.*, 1998; Penttonen *et al.*, 1998; Csicsvari *et al.*, 2003; Somogyi & Klausberger, 2005; Mann *et al.*, 2005a; Mann *et al.*, 2005b). Estas últimas constituyen la población más numerosa de interneuronas GABAérgicas del hipocampo (~20% incluyendo las axo-axónicas; Freund & Buzsaki, 1996) y pueden disparar potenciales de acción en rangos de frecuencia que cubren la banda γ (Jonas *et al.*, 2004). Probablemente, el secuestro de Ca²⁺ intracelular por la parvalbúmina, restringe la activación de las conductancias de K⁺ dependientes de Ca²⁺, y esto reduce la amplitud de la hiperpolarización postpotencial lo que habilita un patrón de disparo regular (sin adaptación) que abarca altas frecuencias (Bourne *et al.*, 2007). Las interneuronas en cesta tienen sinapsis químicas entre sí (Gulyas & Freund, 1996; Freund & Gulyas, 1997), con otros subtipos de interneuronas (Sik *et al.*, 1995; Tamas *et al.*, 2000) y en algunos casos se conectan también vía sinapsis eléctricas (~2-11% de acople; Tamas *et al.*, 2000; Whittington & Traub, 2003; Bartos *et al.*, 2007) lo que permite que potenciales subumbrales se propaguen entre células conectadas y se homogenicen los intervalos interespiga y la frecuencia de disparo de la red neuronal (Traub & Pedley, 1981; Traub *et al.*, 1996; Gibson *et al.*, 1999; Kopell & Ermentrout, 2004). De esta forma, el disparo sincrónico de potenciales de acción de la red de interneuronas GABAérgicas durante las oscilaciones γ , produce la inhibición rítmica de sus células blanco (la constante de tiempo de decaimiento de los IPSPs varía entre ~10-30 ms; esto fija la frecuencia de oscilación entre 30-100 Hz; Soltesz &

Deschenes, 1993; Whittington *et al.*, 1995; Cobb *et al.*, 1995; Traub *et al.*, 1998; Tamas *et al.*, 2000; Bartos *et al.*, 2002) y limita las ventanas de oportunidad para que estas últimas generen un potencial de acción. Así, cuando un grupo de interneuronas activas se sincroniza, la mayoría de las neuronas cercanas, excitadoras e inhibitoras, serán inhibidas al mismo tiempo y podrán producir nuevos potenciales de acción sólo cuando los potenciales inhibidores finalicen (Wang & Buzsaki, 1996; Bartos *et al.*, 2002; Buzsaki *et al.*, 2004). Se acepta entonces que los circuitos de interneuronas en cesta constituyen el esqueleto de muchos osciladores cerebrales que operan a diferentes escalas temporales (Csicsvari *et al.*, 1999; Pike *et al.*, 2000; Whittington *et al.*, 2000; Whittington & Traub, 2003; Buzsaki & Draguhn, 2004). De manera importante, la correlación de la actividad de disparo a frecuencias β/γ y superiores entre células pre- y postsinápticas ha sido sugerida como plataforma para inducir plasticidad dependiente del ordenamiento temporal de los potenciales de acción ("*spike timing dependent plasticity*"; Levy & Steward, 1983; Markram *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1998; Song *et al.*, 2000).

Las oscilaciones poblacionales requieren del disparo coordinado de muchas neuronas. Sin embargo, no todas las neuronas involucradas en los circuitos corticales disparan potenciales de acción durante la actividad neuronal sincrónica. En el hipocampo, las oscilaciones γ pueden mantenerse siempre y cuando exista una cantidad suficiente de interneuronas que disparen en cada ciclo (probabilidad de disparo/ciclo ≤ 0.5 ; Csicsvari *et al.*, 1999; Somogyi & Klausberger, 2005) o con diferente fase respecto a cada ciclo (Somogyi & Klausberger, 2005). A nivel poblacional, la mayor de las corrientes γ se produce cerca de las capas dendríticas proximales de las células piramidales, donde la mayoría de las terminales inhibitoras se encuentran localizadas (Shimono *et al.*, 2000; Papp *et al.*, 2001; Mann *et al.*, 2005b). Por el contrario, la probabilidad de disparo por ciclo de las células piramidales es unas diez veces menor que la de las interneuronas (probabilidad de disparo/ciclo ≤ 0.04 Somogyi & Klausberger, 2005). Algunos reportes indican que las oscilaciones γ pueden ser generadas por circuitos de interneuronas independientemente de la contribución de los EPSPs glutamatérgicos, es decir, se manifiestan o se pueden inducir en presencia de antagonistas a los iGluR (Whittington *et al.*, 1995; Traub *et al.*, 1996; Fisahn *et al.*,

1998; Bracci *et al.*, 1999). Aparentemente, el disparo de las células piramidales no es fundamental para sostener a las oscilaciones γ poblacionales (Buzsaki *et al.*, 2004; Somogyi & Klausberger, 2005). Como ya se mencionó, el disparo de las células piramidales podría servir para computar y almacenar datos relevantes de ciertas entradas sensoriales (O'Keefe, 1976; O'Keefe & Recce, 1993; Tsodyks *et al.*, 1996; Foster & Wilson, 2006). Aun así, la contribución relativa de una célula piramidal en la producción de oscilaciones γ hipocampales es un tema poco explorado (Mikkonen *et al.*, 2006).

HIPERSINCRONÍA Y CRISIS CONVULSIVAS

Las oscilaciones γ espontáneas, que contribuyen con una fracción de la potencia de los registros electroencefalográficos (EEG) hechos en el humano, son producidas por las interacciones sinápticas entre los circuitos talámicos y los corticales (Llinas & Ribary, 1993) y subyacen a diversas funciones cognitivas (Engel *et al.*, 2001). Una variedad de procesos cognitivos como la atención, el reconocimiento visual de objetos y la memoria, modulan la potencia de las oscilaciones γ (Tiitinen *et al.*, 1993; Yordanova *et al.*, 1997; Fries *et al.*, 2001; Debener *et al.*, 2003; Herrmann *et al.*, 2004a; 2004b). Una propiedad importante de estas últimas es que ocurren en diferentes módulos corticales con diferentes retardos (Contreras *et al.*, 1996; Llinas *et al.*, 1998; Destexhe *et al.*, 1998; Engel *et al.*, 2001; Varela *et al.*, 2001; Isomura *et al.*, 2006). En términos generales, la sincronización absoluta entre neuronas (retardo de fase = 0) se presenta en áreas relativamente pequeñas y constituye el substrato funcional para la generación del EEG y de los potenciales de campo (Singer, 1993; Destexhe *et al.*, 1999; Nase *et al.*, 2003). La actividad sincrónica de un grupo de neuronas se propaga hasta el cráneo donde diversos electrodos registran su suma espacial (Steriade *et al.*, 1990). Un aumento de la sincronía entre las neuronas o un incremento del número de neuronas con la misma sincronía potencia la amplitud de las oscilaciones registradas en el EEG (Struber *et al.*, 2000; Varela *et al.*, 2001). En condiciones fisiológicas, la función colectiva de las redes neuronales no resulta en una sincronización excesiva entre módulos. Sin embargo, durante las crisis epilépticas,

diferentes regiones del cerebro se sincronizan y se comportan como osciladores acoplados (Beldhuis *et al.*, 1993; Bragin *et al.*, 1997; Finnerty & Jefferys, 2000). Por ello, se considera que la epilepsia es un desorden funcional del cerebro causado por la descarga neuronal excesiva e hipersincrónica a lo largo de múltiples áreas cerebrales (especialmente distribuidas). Durante una crisis convulsiva, el EEG presenta ondas “epileptiformes” compuestas, básicamente, por ondas lentas (“*sharp waves*” de 80-200 ms de duración) y espigas rápidas (“*spikes*” de 20-80 ms de duración). Al inicio de una crisis epiléptica (*ictus*), los potenciales “epileptiformes” se registran sólo cerca del sitio focal, donde se produce la actividad epiléptica (Avoli *et al.*, 2002; Behrens *et al.*, 2005; Buzsaki & Chrobak, 2005). En caso de una segunda crisis, la actividad hipersincrónica se puede generalizar y propagar a todo el cerebro alterando, incluso, la actividad de los módulos encargados del control motriz (Ferrillo *et al.*, 2000; Herrmann & Demiralp, 2005; Meeren *et al.*, 2005). De manera interesante, durante la fase interictal (entre las dos crisis epilépticas), la actividad espontánea γ en pacientes epilépticos tiene una amplitud ~ 7 -10 veces mayor que en pacientes sanos (Willoughby *et al.*, 2003). Registros intracraneales en pacientes epilépticos muestran que el inicio de una crisis convulsiva está precedido por un incremento significativo de oscilaciones de alta frecuencia (Fisher *et al.*, 1992). Tras la crisis, la potencia de las oscilaciones entre 40-50 Hz se duplica y la de 80-120 Hz se quintuplica (referenciadas al período antes de la crisis; Fisher *et al.*, 1992; Alarcon *et al.*, 1995). De manera interesante, registros en humanos con epilepsia focal revelan oscilaciones β/γ y de mayor frecuencia cerca del sitio de iniciación de las crisis convulsivas (revisado en Jefferys, 2003). Algunos autores, incluso, proponen que la actividad epiléptica en el cerebro es una consecuencia de un incremento excesivo de las oscilaciones γ (Medvedev, 2002). Por supuesto, los cambios en la actividad del EEG durante y tras las crisis convulsivas suceden en ésta y otras bandas de frecuencia.

A pesar de que la dinámica de las crisis epilépticas depende de las proyecciones de largo alcance (Steriade & Amzica, 1996; Contreras *et al.*, 1996; Destexhe *et al.*, 1999; Meeren *et al.*, 2005), los mecanismos que permiten que regiones cerebrales manifiesten actividad epileptiforme se pueden conservar en preparaciones de cerebro *in vitro*. Empleando registros extracelulares en rebanadas de

hipocampo, se ha mostrado que el bloqueo parcial de los receptores GABA_A produce eventos “epilépticos” que se originan en la zona CA3 del hipocampo (Borck & Jefferys, 1999). Las células piramidales de CA3 están altamente interconectadas por sinapsis excitadoras recurrentes y su disparo de potenciales de acción se restringe por la actividad de las interneuronas locales de CA3 (Bragin *et al.*, 1995b; Penttonen *et al.*, 1997). Por ello, el bloqueo parcial o total de los GABA_AR disminuye el control inhibitorio sobre esta estructura y se produce una reacción en cadena de disparo de potenciales de acción que hipersincroniza a la población de células excitadoras (McCormick *et al.*, 1993; D’Antuono *et al.*, 2002). De esta forma, la disminución de la inhibición GABAérgica puede fomentar el disparo excesivo de las neuronas. La hiperexcitación mediada por la activación excesiva del sistema glutamatérgico podría resultar también en hipersincronía (revisado en Jefferys, 2003) acompañada por un incremento de las oscilaciones γ en el cerebro de la rata (Medvedev *et al.*, 2000).

A la fecha, la terminación de las crisis convulsivas es uno de los aspectos menos comprendidos de la epilepsia. Es posible que la intensa actividad de disparo que presentan las neuronas durante las crisis, produzca cambios en los potenciales de equilibrio de Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ y esto modifique la dinámica de las corrientes intrínsecas celulares (Traub *et al.*, 1991; 1994; Pinsky & Rinzel, 1994; Stocker, 2004; Bean, 2007). Tras crisis convulsivas, la disminución dramática del Ca²⁺ extracelular, el incremento de la amplitud de ciertas corrientes de K⁺ y la acidificación del líquido intersticial, que disminuye la conductancia de las sinapsis eléctricas (Hormuzdi *et al.*, 2004; Peracchia, 2004), han sido identificados como mecanismos que previenen el reclutamiento de excitación recurrente y posiblemente son agentes que contribuyen con la terminación de las crisis (Amzica & Neckelmann, 1999; Perez Velazquez & Carlen, 2000; Jefferys, 2003). Asimismo, es posible que un aumento de la síntesis y liberación de GABA sea fundamental en la terminación de las crisis (Schwarzer & Sperk, 1995; Sloviter *et al.*, 1996). Resultados de nuestro laboratorio indican que las crisis convulsivas habilitan la expresión de un fenotipo GABAérgico en las células granulares del hipocampo (revisado en Gutierrez, 2003; 2005). Evidentemente, esto podría constituir un mecanismo “protector” que contribuya a restaurar la inhibición de CA3.

FENOTIPO DUAL GLUTAMATÉRGICO/GABAÉRGICO DE LAS CELULAS GRANULARES

A la idea de que “las neuronas liberan sólo un neurotransmisor” se le conoce comúnmente como el “principio de Dale”, y fue propuesto por Eccles a partir de los trabajos de Dale (Dale, 1935). Al parecer, la hipótesis original propone que cualquier neurotransmisor (o combinación de neurotransmisores) que fuera liberado de una terminal de una neurona, conceptualizada como unidad metabólica, sería liberado por todas sus demás terminales. Esta configuración aseguraría que la actividad que se propaga por el axón de una neurona y llega a sus terminales, fuera transmitida equivalentemente a todos los blancos postsinápticos, independientemente de la identidad neuroquímica o neuroanatómica de éstos últimos. Sin embargo, se han encontrado ejemplos de células del sistema nervioso central de mamíferos que cumplen con alguna de las siguientes características: i) presentan especialización/modulación presináptica dependiendo del blanco postsináptico (Davis & Murphey, 1993; Katz *et al.*, 1993; Scanziani *et al.*, 1995; Maccaferri *et al.*, 1998), ii) sintetizan diferentes proteínas en diferentes compartimentos (v.gr. síntesis dendrítica de proteínas necesarias para la plasticidad sináptica; Huang & Kandel, 2005; Sutton & Schuman, 2006), iii) almacenan diferentes neurotransmisores u hormonas en diferentes terminales (Sossin *et al.*, 1990; Samano *et al.*, 2006), o iv) liberan más de un neurotransmisor (Jonas *et al.*, 1998; Didier *et al.*, 2001; Gutierrez *et al.*, 2003; Ottem *et al.*, 2004; Takazawa *et al.*, 2004; Gillespie *et al.*, 2005). Esto contradice el “principio de Dale”: las neuronas pueden coliberar más de un neurotransmisor y no siempre funcionan como una unidad metabólica (por lo menos en la fase temprana de la potenciación de largo plazo; Sutton & Schuman, 2006). Uno de los ejemplos más representativos de neuronas que coliberan dos neurotransmisores de acción rápida (i.e. de rápida difusión por su bajo peso molecular) lo conforman las células granulares en el hipocampo (Gutierrez, 2005). La presencia del ARNm del transportador vesicular para GABA (VGAT), de la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD₆₇), que sintetiza GABA *de novo*, y GABA en las células granulares del GD (consideradas glutamatérgicas; Crawford & Connor, 1972), sugiere que el GABA puede ser sintetizado, vesiculado y liberado de las mismas neuronas (revisado en Gutierrez, 2003; 2005). Estos marcadores se expresan durante las primeras tres semanas postnatales

(Gutierrez *et al.*, 2003), casi no se detectan en la rata adulta, pero se sobre-expresan después de incrementos prolongados de excitabilidad (Sandler & Smith, 1991; Schwarzer & Sperk, 1995; Sloviter *et al.*, 1996; Lehmann *et al.*, 1996; Ramirez & Gutierrez, 2001; Gomez-Lira *et al.*, 2002; Gutierrez, 2003; Maqueda *et al.*, 2003) y tras emplear protocolos de estimulación tetánica *in vitro* de la vía perforante (Gutierrez, 2002). Estudios electrofisiológicos realizados cuando las células granulares expresan el fenotipo GABAérgico, muestran que la activación de las FM produce, además de respuestas sinápticas glutamatérgicas, potenciales/corrientes GABAérgicas (monosinápticas) en sus células blanco: células piramidales e interneuronas de CA3 (Gutierrez, 2000; Gutierrez & Heinemann, 2001; Walker *et al.*, 2001; Gutierrez, 2002; Romo-Parra *et al.*, 2003; Gutierrez *et al.*, 2003; Bergersen *et al.*, 2003; Kasyanov *et al.*, 2004; Safiulina *et al.*, 2005). Esto es posible dado que existen GABA_AR postsinápticos frente a las terminales de las FM (Bergersen *et al.*, 2003). Asimismo, las respuestas GABAérgicas postsinápticas inducidas por la estimulación eléctrica de las FM presentan las mismas propiedades fisiológicas y farmacológicas que han sido descritas para la transmisión sináptica glutamatérgica proveniente de esta vía: facilitación por incremento en la frecuencia de estimulación, potenciación de largo plazo independiente de activación de NMDARs e inhibición presináptica por activación de mGluR (revisado en Gutierrez, 2003; 2005; Nicoll & Schmitz, 2005). En particular, la amplitud de las repuestas GABAérgicas postsinápticas es inhibida por la acción presináptica del L-AP4 (1 μ M), un agonista de los mGluR-III presentes en las FM (Ohishi *et al.*, 1993; Ohishi *et al.*, 1995; Shigemoto *et al.*, 1996; Shigemoto *et al.*, 1997).

REGISTRO DE POTENCIALES POSTSINÁPTICOS EN EL ESPACIO EXTRACELULAR

El espacio extracelular tiene una resistencia finita ($\sim 200 \Omega\text{cm}$) y puede ser considerado como un sistema relativamente independiente del espacio intracelular dado a que sus fronteras, las membranas celulares, tienen alta resistencia ($>1 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$). Esto permite que las corrientes generadas por las neuronas viajen de forma pasiva a lo largo del espacio extracelular. Los efectos capacitivos, inductivos y magnéticos del

espacio extracelular son prácticamente despreciables (a frecuencias ≤ 1 kHz) y, por ello, la distribución espacial del potencial extracelular está gobernada por la ecuación de Laplace (i.e. es un campo conservativo; Gold *et al.*, 2006). El evento intracelular (somático) de mayor amplitud es la corriente rápida, generada por flujos de Na^+ y K^+ , que produce un potencial de acción en el interior de las neuronas (monofásico el caso más simple; Bean, 2007) y una onda trifásica, con una espiga de amplitud negativa, en el voltaje extracelular localizado a la altura del segmento inicial del axón y/o soma. Esto se debe a que el potencial extracelular es proporcional a la segunda derivada espacial del potencial transmembranal (Clark & Plonsey, 1966) y refleja la suma lineal de los campos generados por *fuentes* (corriente positiva que viaja del espacio intracelular al extracelular) y *pozos* (corriente positiva que viaja del espacio extracelular al intracelular) de corriente, atenuados en función de la distancia (ley de Coulomb; Mitzdorf, 1985; Gold *et al.*, 2006). Empleando registros simultáneos intra- y extracelulares, hechos en células piramidales del hipocampo (Henze *et al.*, 2000; Gold *et al.*, 2006), se ha encontrado que la amplitud de la espiga de campo registrada en el *stratum pyramidale* de CA3 (~1-2 órdenes de magnitud menor que la señal intracelular) es proporcional al número de células piramidales que disparan potenciales de acción en sincronía (Buzsáki *et al.*, 1996; Johnston D. & Amaral D.G., 1998). Similarmente, se ha demostrado que existe una proporcionalidad entre los cambios de la pendiente inicial de los potenciales de campo registrados cerca de las dendritas apicales, donde se producen las entradas sinápticas, y los de la pendiente inicial de los potenciales postsinápticos registrados intracelularmente a nivel somático (Langmoen & ANDERSEN, 1981; Kirkwood & Bear, 1994a; 1994b). De manera interesante, el filtrado de alta-frecuencia (“*low-pass filter*”) que presenta el espacio extracelular, aportado por la capacitancia de las células (la impedancia de un capacitor disminuye al incrementar la frecuencia), atenúa en mayor proporción a los eventos rápidos que a las fluctuaciones lentas del voltaje. Como resultado, las señales de campo que producen los potenciales postsinápticos se propagan mucho más que las espigas de campo. Más aun, a diferencia de los potenciales de acción (~2 ms de duración; Bean, 2007), los potenciales postsinápticos son de mayor duración y ocurren con mucho mayor frecuencia lo que incrementa la probabilidad de que superpongan en el tiempo. En conclusión, las corrientes postsinápticas excitadoras (e

inhibidoras), que producen potenciales postsinápticos subumbrales, son las que definen, fundamentalmente, a la distribución del potencial extracelular (Freeman & Nicholson, 1975; Mitzdorf, 1985; Golarai & Sutula, 1996a; 1996b; Berzhanskaya *et al.*, 1998; Kloosterman *et al.*, 2001; Buzsaki, 2006).

PLANTEAMIENTO DE LAS HIPÓTESIS

La evidencia experimental que nuestro laboratorio ha presentado en los últimos años confronta la idea de que las FM constituyan una vía exclusivamente excitadora en el hipocampo. Es probable que las FM funcionen también como una proyección inhibitoria (GABAérgica) y que esto se refleje en la integración de la actividad eléctrica poblacional del área CA3. Por lo anterior se plantean las siguientes hipótesis de trabajo.

Hipótesis I: “Las FM constituyen una proyección inhibitoria (GABAérgica) en el hipocampo”

La estimulación eléctrica del GD de rata adulta, cuando las células granulares expresan los marcadores del fenotipo GABAérgico, producirá una liberación masiva de GABA que activará un gran número de GABA_AR espacialmente restringidos. Consecuentemente, esto generará una corriente extracelular lo suficientemente grande como para ser detectada con un registro del potencial de campo.

Hipótesis II: “La transmisión GABAérgica proveniente de las FM modula la actividad espontánea de CA3”

La liberación de GABA de las FM sobre las células de CA3 debería reflejarse como una alteración de las oscilaciones de campo espontáneas de CA3. Dado que las interneuronas constituyen el principal blanco postsináptico de las FM (Amaral *et al.*, 1990; Acsady *et al.*, 1998), se espera que la señal GABAérgica proveniente de esta vía module primordialmente la actividad de disparo y/o subumbral de las interneuronas de CA3.

OBJETIVOS

- **Caracterizar farmacológicamente los componentes de los potenciales de campo evocados en la región CA3 por la estimulación del GD en ratas adultas control y en animales que tuvieron una o varias crisis convulsivas.**
 - Caracterizar el efecto de la emergencia de la señal GABAérgica de las FM, producida por crisis convulsivas: i) en la inhibición proactiva de la región CA3 empleando un protocolo de pulsos pareados y ii) en la inhibición de las FM mediada por la activación de GABA_AR presinápticos.

- **Caracterizar farmacológicamente el efecto de la emergencia de la señal GABAérgica de las FM, producida por las crisis convulsivas, en la actividad espontánea de campo en la zona CA3.**
 - Determinar el efecto de la inhibición selectiva de la transmisión GABAérgica proveniente de las FM en la actividad espontánea de campo en la zona CA3.

MÉTODOS

Para los experimentos se usaron ratas adultas macho de la cepa *Wistar* de ~230-280 gr. de peso. Las crisis convulsivas fueron producidas por “*kindling*” eléctrico *in vivo* (Gutierrez & Heinemann, 2001) o por inyección única de pentilene tetrazol (PTZ, 60 mg/kg i.p.; Gutierrez, 2000). Media hora después de la crisis convulsiva, las ratas fueron anestesiadas, decapitadas y sus cerebros fueron extraídos. Posteriormente, se cortaron rebanadas combinadas de corteza-hipocampo (400 μ m) y fueron sumergidas en líquido ceforraquídeo artificial (LCRA) oxigenado. La composición del LCRA fue (en mM): 129 NaCl, 3 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 1.8 MgSO₄, 1.6 o 0 CaCl₂, 20 NaHCO₃ y 10 glucosa; pH = 7.35 (a 33° C). Los registros fueron hechos en una cámara de interfase líquido-aire, con perfusión continua de LCRA oxigenado a 34°C (1 ml/min) por lo menos una hora después de cortar las rebanadas. Para los registros extra- e intracelulares se usaron microelectrodos de borosilicato de 8-12 M Ω llenos con NaCl (155 mM) y de 70-90 M Ω llenos con acetato de potasio (2 M), respectivamente. Todas las células que se registraron intracelularmente se localizaron en la región CA3a-b (i.e. porción distal respecto al GD; Ishizuka *et al.*, 1995). Para algunos experimentos, el GD fue separado del área CA3 con un corte hecho con un escalpelo desde el extremo distal de la hoja superior al extremo distal de la hoja inferior del GD, a través del hilus. Estas rebanadas se mantuvieron en la cámara de interfase líquido-aire por lo menos 4 h antes de comenzar su registro. Para evocar respuestas sinápticas, se aplicaron pulsos de corriente de 0.1 ms a una frecuencia de 0.05 Hz con un electrodo bipolar de platino situado en la capa granular del GD o en el *stratum radiatum* de la zona CA3. Las respuestas antidrómicas registradas en el GD fueron evocadas de la misma manera por estimulación eléctrica del *SL*. Para cada experimento se determinaron curvas de intensidad de estímulo vs. amplitud de respuesta y se fijó la corriente de estimulación a un valor que evocara el 60% de la máxima respuesta de campo obtenida en LCRA control. Los experimentos con rebanadas de ratas tratadas con PTZ o sometidas a “*kindling*” eléctrico *in vivo*, fueron hechos en presencia de pirenzepina para evitar la contribución generada por la activación de la proyección colinérgica a CA3 (Gutierrez & Heinemann, 2001; Romo-Parra *et al.*, 2003). Las drogas utilizadas fueron diluidas en el LCRA. Se usaron antagonistas a los

receptores: tipo NMDA (APV, 30 μ M; Tocris, Ballwin, MO), tipo no-NMDA (NBQX, 10 μ M; Tocris), colinérgicos tipo M1 (pirenzepina, 10 μ M; Research Biochemicals, Natick, MA), y GABA_A (bicuculina, 20 μ M; Sigma, St. Louis; picrotoxina, 100 μ M; Tocris). Asimismo, se emplearon agonistas para los receptores metabotrópicos a glutamato (mGluR) tipo II (DCG-IV, 10 μ M; Tocris) y tipo III (LAP-4, 1 μ M; Tocris). Las señales electrofisiológicas registradas fueron amplificadas (Axoclamp 2B; Molecular Devices, Palo Alto, CA), digitalizadas (Digidata 1200, Molecular devices), adquiridas (pClamp8; Axon Instruments) y exportadas a MATLAB (MathWorks, Inc.) para su análisis, que comprendió: análisis de densidad de corriente en una dimensión ("*Current Source Density Analysis*"; Freeman & Nicholson, 1975), análisis de correlación, espectros de potencia y espectrogramas (Torrence C & Compo GP, 1998). Mediante una interfaz gráfica se calcularon los valores máximo, promedio y área bajo la curva para diferentes ventanas de frecuencia definidas por el usuario. Adicionalmente, se realizó el análisis espectral de la actividad subumbral espontánea de células piramidales e interneuronas registradas previamente en nuestro laboratorio (Gutierrez, 2000; Romo-Parra *et al.*, 2003; Vivar & Gutierrez, 2005) y se comparó con los espectros obtenidos de los registros extracelulares. Las graficas de grupo representan el valor promedio \pm s.e.m. Las pruebas estadísticas que se emplearon incluyeron análisis de varianza de una vía, prueba t de Student y pruebas de comparación múltiple con valores críticos dados por criterios de Tukey-Kramer, Scheffé y Kruskal-Wallis. La significancia se fijó en $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

Los resultados que cubren los objetivos de esta tesis se presentan en los siguientes artículos.

- **Trevino M.**, Gutierrez R., (2005). THE GABAERGIC PROJECTION OF THE DENTATE GYRUS TO HIPPOCAMPAL AREA CA3 OF THE RAT: PRE- AND POSTSYNAPTIC ACTIONS AFTER SEIZURES. *J. Physiol* 567:939-949.

En este trabajo describimos que, después de la inducción de una o varias crisis epilépticas *in vivo*, la estimulación eléctrica del GD produce respuestas sinápticas de campo mediadas por la activación de receptores GABA_A. En preparaciones de ratas control, las respuestas de campo en CA3 son deprimidas por la activación de mGluR-II pero no de mGluR-III y son bloqueadas por antagonistas a los iGluR. Sin embargo, después de crisis convulsivas, las respuestas de campo del SL de CA3 a la estimulación del GD no son completamente bloqueadas por antagonistas a los iGluR: el componente sináptico remanente es bloqueado por el antagonista de los receptores GABA_A, la bicuculina. Estos “potenciales de campo GABAérgicos” presentan facilitación al cambiar la frecuencia de estimulación del GD de 0.05 a 1 Hz y son fuertemente inhibidos por la activación de mGluR-III. Asimismo, encontramos que la señalización GABAérgica proveniente de las FM produce inhibición presináptica por la activación de receptores GABA_A localizados en las mismas FM. Concluimos que las respuestas poblacionales GABAérgicas pueden ser registradas en CA3 debido a que la estimulación eléctrica del GD produce la liberación simultánea de GABA de un número considerable de botones de las FM. Además, estas respuestas postsinápticas están espacialmente restringidas en el SL, sitio donde las FM convergen y hacen contacto con las dendritas apicales de las células piramidales de CA3. En conjunto, estos resultados aportan evidencia de que las FM pueden funcionar como una proyección dual glutamatérgica/GABAérgica en el hipocampo de ratas que presentaron crisis convulsivas, mientras que en ratas control, la transmisión de las FM es exclusivamente glutamatérgica. Más

aun, mostramos que el control de la liberación de GABA es selectivamente ejercido por mGluR-III. La liberación de GABA, evocada por la estimulación eléctrica de esta vía produce efectos de campo pre- y postsinápticos que modifican la actividad de campo de la zona CA3. Esto sugirió que la actividad espontánea de las células granulares podría tener un efecto sobre la actividad oscilatoria espontánea de CA3. Esto es analizado en la segunda parte de los resultados, presentados a continuación.

- **Trevino M.,** Vivar C., Gutierrez R., (2007). β/γ OSCILLATORY ACTIVITY IN THE CA3 HIPPOCAMPAL AREA IS DEPRESSED BY ABERRANT GABAERGIC TRANSMISSION FROM THE DENTATE GYRUS AFTER SEIZURES. *J Neurosci* 27(1):251-9.

En este trabajo reportamos que la transmisión GABAérgica proveniente del GD, presente después de provocar crisis epilépticas, deprime las oscilaciones β/γ de la zona CA3. La actividad oscilatoria en esta región es consecuencia de la excitación recurrente entre células piramidales que son inhibidas rítmicamente por la red local de interneuronas. A partir de los resultados que obtuvimos en el trabajo anterior, nos preguntamos si la transmisión GABAérgica proveniente del GD, después de crisis convulsivas, produciría algún efecto en las oscilaciones espontáneas de campo de la zona CA3. Encontramos que, en ratas epilépticas, pero no en ratas adultas control, el GD produce una inhibición tónica de las oscilaciones γ de campo en CA3, mediada por la activación de receptores GABA_A. Esta inhibición se evidenció al activar receptores a mGluR-III, con L-AP4 (10 μ M), lo que incrementó la potencia espectral de las oscilaciones de la banda β/γ (~25 Hz) en la zona CA3. Esta modulación fue prevenida al realizar un corte perpendicular de las FM, lo que confirma la acción presináptica de los agonistas que empleamos. La modulación de la actividad β/γ en CA3 por la activación de mGluRs, se observó también en presencia de antagonistas a los iGluR y fue bloqueada por la bicuculina. Mostramos además que en rebanadas

de ratas epilépticas perfundidas con LCRA, la estimulación eléctrica del GD a frecuencias de 10, 20 y 50 Hz produce una suma de EPSPs y potenciales de acción en interneuronas localizadas en el *SL*, mientras que en las células piramidales de CA3 se observa una suma de IPSPs. Lo opuesto sucede en preparaciones control. Como ha sido previamente reportado por nuestro laboratorio, la activación del GD en presencia de antagonistas a los iGluRs produce potenciales monosinápticos mediados por la activación de receptores GABA_A en células piramidales e interneuronas de CA3. Estas respuestas fueron deprimidas por la activación de mGluR-III e, interesantemente, la activación de estos receptores produjo un incremento de las oscilaciones subumbrales en la misma banda espectral que fue afectada en los registros de campo de rebanadas de ratas epilépticas, pero no de ratas adultas control. Concluimos que la señalización GABAérgica proveniente de las FM constituye una señal fisiológica relevante que modula la actividad oscilatoria de CA3. Se sugiere que esta señal inhibitoria aberrante puede subyacer a los problemas de retención y consolidación de memoria que se presentan después de las crisis convulsivas.

DISCUSIÓN

Los resultados de esta tesis apoyan la hipótesis de que las crisis epilépticas activan un mecanismo que permite que las células granulares del GD del hipocampo de ratas adultas expresen los mecanismos de síntesis y liberación de GABA y que, en consecuencia, puedan liberar GABA de sus terminales, las FM. El fenotipo GABAérgico se expresa transitoriamente en estas células con incrementos sostenidos de excitabilidad (Gutierrez & Heinemann, 2001; Gutierrez, 2002). En los experimentos que se realizaron durante este trabajo de tesis, la expresión del fenotipo GABAérgico de las células granulares se produjo mediante “*kindling*” *in vivo* (Gutierrez & Heinemann, 2001) o mediante la inducción una crisis convulsiva generalizada *in vivo* por la inyección intra-peritoneal de un agente convulsivante (PTZ, 60 mgkg⁻¹; Gutierrez, 2000). Ambos métodos inducen la sobre-expresión de GAD₆₇ y el ARNm del VGAT en las células granulares del hipocampo de la rata (Schwarzer & Sperk, 1995; Gutierrez & Heinemann, 2001; Lamas *et al.*, 2001; Ramirez & Gutierrez, 2001; Gomez-Lira *et al.*, 2002; Gutierrez, 2002; Maqueda *et al.*, 2003) y la activación de las FM produce respuestas monosinápticas glutamatérgicas y GABAérgicas simultáneas en las células piramidales e interneuronas de CA3 (Romo-Parra *et al.*, 2003). Empleando registros extracelulares con electrodos situados en el *SL* de CA3, identificamos que la estimulación eléctrica de las FM, en rebanadas de hipocampo de ratas adultas control, produce respuestas sinápticas de campo, dependientes de la activación de los iGluR. Los componentes sinápticos de estas respuestas son completamente eliminados por antagonistas a los iGluR o por la perfusión de un LCRA bajo en Ca²⁺; la señal de campo remanente constituye la salva aferente. Sin embargo, en ratas a las que se les produjo una o varias crisis convulsivas, la activación de las FM en presencia de estos antagonistas, produce componentes en los potenciales de campo registrados en el *SL* y potenciales postsinápticos registrados en células piramidales e interneuronas de CA3, dependientes de la activación de GABA_AR. Cuando los iGluR son bloqueados con antagonistas APV (30 μM) y NBQX (10 μM), se bloquean todos los componentes excitadores y se previene la inhibición polisináptica (i.e. no se activan interneuronas locales de CA3; Sik *et al.*, 1994; Weisskopf & Nicoll, 1995; Gutierrez, 2000; Gutierrez & Heinemann, 2001; Gutierrez, 2002;

Romo-Parra *et al.*, 2003). De esta forma se aísla la señal GABAérgica proveniente de las FM. Las interneuronas GABAérgicas que se localizan en el GD y que son activadas por la estimulación eléctrica del GD no proyectan sus axones más allá del hilus (Sik *et al.*, 1997) y no existe evidencia que indique que una interneurona local del GD proyecte su axón hasta la zona CA3a-b del hipocampo, donde se realizaron los registros de esta tesis. En conjunto, esta información apoya fuertemente que las señales GABAérgicas registradas en CA3 son monosinápticas y provienen de las FM. Esto ha sido corroborado por otros grupos de investigación (Walker *et al.*, 2001; Kasyanov *et al.*, 2004; Safiulina *et al.*, 2005). Para detectar “potenciales de campo GABAérgicos” registrados en CA3 se requiere de la activación de una entrada sináptica que libere masivamente GABA en un sitio localizado. Con el análisis de la densidad de corriente de las respuestas extracelulares glutamatérgica y GABAérgica (aisladas farmacológicamente) evocadas por la activación de las FM, confirmamos que ambas señales son generadas en el mismo sitio: el SL. En esta capa, las FM hacen contacto sináptico con las dendritas apicales proximales de las células piramidales de CA3.

Los “potenciales de campo GABAérgicos” evocados por la estimulación eléctrica del GD poseen las características fisiológicas y farmacológicas reportadas para la transmisión sináptica excitadora proveniente de las FM: facilitación por frecuencia, e inhibición presináptica por la activación de mGluR-III. Notablemente, las “respuestas de campo GABAérgicos” presentan una facilitación por incremento en la frecuencia de estimulación de menor proporción (<200%) que lo reportado para las señales glutamatérgicas (~300%; revisado en Nicoll & Schmitz, 2005). Esto concuerda con reportes que indican que el GABA está menos concentrado que el glutamato en los botones de las FM (Bergersen *et al.*, 2003). Asimismo, la facilitación por frecuencia de los “potenciales de campo GABAérgicos” registrados en CA3 (mediada por incremento en la frecuencia de estimulación de las FM de 0.1 a 1 Hz), en las preparaciones de rebanadas de rata que fueron epileptizadas *in vitro* o *in vivo*, fue 20% más pronunciada que la que observamos en el grupo de animales que tuvieron una sola crisis convulsiva. Esto concuerda con los niveles de expresión de GABA, GAD₆₇ y ARNm de VGAT reportado para las células granulares en estas

condiciones (Lamas *et al.*, 2001; Ramirez & Gutierrez, 2001; Gomez-Lira *et al.*, 2002; Gomez-Lira *et al.*, 2005). Las “respuestas de campo GABAérgicas” presentaron inhibición presináptica por la activación de mGluR-III (revisado en Gutierrez, 2003; 2005). Estos receptores se expresan en las FM de la rata (Ohishi *et al.*, 1993; Ohishi *et al.*, 1995; Shigemoto *et al.*, 1996; Shigemoto *et al.*, 1997) y su activación ha sido empleada para inhibir las contribuciones de la señalización GABAérgica de las FM sobre sus blancos postsinápticos en CA3 (Gutierrez, 2000; Gutierrez & Heinemann, 2001; Walker *et al.*, 2001; Gutierrez, 2002; Romo-Parra *et al.*, 2003; Gutierrez *et al.*, 2003; Kasyanov *et al.*, 2004; Safiulina *et al.*, 2005). En este trabajo confirmamos que la sensibilidad de las FM al L-AP4 (20 μ M) constituye una de las propiedades de la transmisión GABAérgica proveniente de las FM (Gutierrez, 2002). Esto nos permitió identificar la contribución de la transmisión GABAérgica de las FM sobre la integración de la actividad eléctrica espontánea en CA3. Se ha sugerido que la liberación de glutamato y GABA de las FM está sometida a una modulación presináptica diferencial (Gutierrez, 2002; 2003). Evidencia inmunohistoquímica muestra que los receptores metabotrópicos a glutamato del grupo III se localizan en zonas activas de sinapsis simétricas (GABAérgicas) mientras que el grupo II, en las porciones terminales de las FM (Ohishi *et al.*, 1995; Shigemoto *et al.*, 1996; 1997). Sugerimos entonces que la activación específica de cada uno de estos receptores brinda un control presináptico específico para regular la señal sináptica de las FM sobre CA3. La facilitación dependiente de la frecuencia de estimulación y la potenciación de largo plazo independiente de receptores NMDA (revisado en Nicoll & Schmitz, 2005) son propiedades fisiológicas distintivas de la transmisión sináptica excitadora que producen las FM del hipocampo. Esto sugiere que los receptores presinápticos de las FM se activan y desactivan de acuerdo a mecanismos dependientes de actividad (Walker *et al.*, 2001; Gutierrez *et al.*, 2003; 2005). Por ello, es posible que los protocolos de estimulación de alta frecuencia que se emplean para controlar las crisis convulsivas en pacientes epilépticos (revisado en Durand & Bikson, 2001) tengan una relación con la inducción de plasticidad fenotípica, quizá de largo plazo, en proyecciones neuronales como las FM. Similarmente, se ha mostrado que los pacientes con epilepsia del lóbulo temporal presentan una sobreexpresión de mGluR-III en el GD (Lie *et al.*, 2000) y esto podría modular la vulnerabilidad de las

neuronas hipocampales a la generación de una nueva crisis convulsiva. Los resultados de nuestro laboratorio nos permiten sugerir que la activación excesiva de estos receptores podría inhibir la liberación de GABA de las FM y contribuir a la generación de un estado de hiperexcitabilidad. Por lo tanto, es posible que un tratamiento farmacológico diferencial, que active tónicamente a los mGluR-II y que bloquee los mGluR-III constituya una herramienta útil para el tratamiento de la epilepsia de lóbulo temporal.

La observación de que las FM poseen receptores GABA_A (Ruiz *et al.*, 2003) nos hizo suponer que, después de crisis epilépticas, la liberación de GABA de las FM podría inhibir presinápticamente a otras FM colaterales. Los resultados de esta tesis muestran que esto es factible. Ha sido propuesto que la inhibición colateral de las FM se produce primordialmente por el glutamato. La estimulación a alta frecuencia de esta proyección produce la acumulación de glutamato en el espacio extrasináptico que activa mGluRs y receptores a kainato presinápticos (Min *et al.*, 1998; Vogt & Nicoll, 1999; Schmitz *et al.*, 2001). Nuestros resultados expanden esta noción e indican que la transmisión GABAérgica de las FM activa GABA_AR presinápticos localizados en las FM (Ruiz *et al.*, 2003; Nakamura *et al.*, 2007) lo que produce inhibición colateral de otras FM. La señal GABAérgica de las FM incorpora un elemento inhibitor adicional en la integración de la actividad postsináptica en CA3. Se ha demostrado que la varianza de las señales inhibitoras que producen las interneuronas controla la frecuencia de disparo de las células piramidales. En consecuencia, es probable que, como ha sido demostrado con redes artificiales de interneuronas en cesta, el grado de heterogeneidad de la señal GABAérgica proveniente de las FM module la eficacia de la inhibición en CA3 (Aradi & Soltesz, 2002; Aradi *et al.*, 2002).

Empleando registros poblacionales y mediante un protocolo de pulsos pareados, mostramos que el área CA3 no se desinhibe a pesar de que la señalización GABAérgica de las FM se manifiesta después de estados de hiperexcitabilidad en células piramidales e interneuronas. Probablemente esto se deba a la fina compartimentalización que las FM tienen con células piramidales e interneuronas en esta región. Esto

permite que las FM sigan excitando a las interneuronas encargadas de producir inhibición proactiva. De esta forma, la señal inhibitoria proveniente de las FM produce un efecto inhibitorio neto sobre CA3 (Gutierrez & Heinemann, 1999; Romo-Parra *et al.*, 2003). Empleando registros intracelulares y respuestas poblacionales de campo, mostramos que la acción inhibitoria de la liberación de GABA de las FM se incorpora con los efectos inhibitorios que producen las interneuronas reclutadas por la activación de las FM.

Nuestros resultados indican que la estimulación del GD provoca respuestas de campo GABAérgicas en CA3 y que esto modifica la actividad espontánea de CA3. En animales adultos que tuvieron crisis epilépticas, las oscilaciones β/γ en la zona CA3 son inhibidas tónicamente por la transmisión GABAérgica espontánea proveniente de las FM. En el animal adulto, la señal GABAérgica de las FM aparece solo después de crisis epilépticas y opera en la dirección inhibitoria ya que: i) la activación de las FM produce respuestas monosinápticas hiperpolarizantes en células piramidales e interneuronas de CA3 (Gutierrez, 2000; Gutierrez & Heinemann, 2001; Romo-Parra *et al.*, 2003), ii) a pesar de que las interneuronas reciben la entrada GABAérgica de las FM, CA3 no se desinhibe y iii) por que la activación de mGluR-III presinápticos disminuye la entrada GABAérgica de las FM sobre CA3 y potencia la amplitud de las oscilaciones β/γ en esta región. Asimismo, el hecho de que esta modulación requiera que la proyección de las FM a CA3 esté intacta, confirma que el efecto de la activación de los mGluR-III es presináptico. Similarmente, tras crisis convulsivas, la activación de mGluR-III, en presencia de iGluR, potencia el componente β de las oscilaciones de campo y subumbrales de membrana de interneuronas del SL de la zona CA3. Estas interneuronas proyectan sus terminales hacia la región perisomática de las células piramidales (Somogyi *et al.*, 1983; Freund, 2003) y participan fundamentalmente en la generación de las oscilaciones β que registramos en el espacio extracelular (Bragin *et al.*, 1995a; Fisahn *et al.*, 1998; Penttonen *et al.*, 1998; Csicsvari *et al.*, 2003; Jonas *et al.*, 2004; Mann *et al.*, 2005a; Mann *et al.*, 2005b).

La estimulación eléctrica del GD a frecuencias “fisiológicamente relevantes” (1, 10, 20, 50 Hz) revela que al hacerlo en el rango β (20 Hz), se produce una restricción máxima para evocar potenciales de acción en las células piramidales de CA3. Esto se debe a que las propiedades *intrínsecas* de resonancia de las interneuronas en cesta (Pike *et al.*, 2000), permiten que la despolarización rítmica de su membrana a frecuencias β se traduzca en una máxima probabilidad de disparo, lo que produce la liberación de GABA y la activación de GABA_ARs localizados en las células piramidales. Dado que la señal GABAérgica proveniente de esta proyección no elimina el componente de inhibición proactiva sobre CA3, es posible que este protocolo de estimulación maximice la inhibición neta sobre las células piramidales de CA3, esto al conjuntar las señales inhibitoras provenientes de las vías mono- y disináptica. Es posible que la liberación simultánea de glutamato y GABA de las FM sobre CA3 produzca transferencias de carga sináptica que difieren dependiendo de la frecuencia de estimulación de las FM (Jung & McNaughton, 1993; Bragin *et al.*, 1995b; Penttonen *et al.*, 1997; Arabadzisz & Freund, 1999; Lawrence & McBain, 2003; Mori *et al.*, 2004) y del tipo de neurona postsináptica que se registra (Bergersen *et al.*, 2003; Lawrence & McBain, 2003; Safiulina *et al.*, 2005). Una fina segregación en el contenido y liberación de glutamato/GABA de las FM con interneuronas y células piramidales de CA3 (Walker *et al.*, 2001; Gutierrez, 2002; Romo-Parra *et al.*, 2003; Bergersen *et al.*, 2003; Safiulina *et al.*, 2005) podría explicar esto último. Los experimentos y análisis que actualmente realizamos nos sugieren que precisamente esto es lo que sucede. El siguiente esquema (figura 2) integra nuestros resultados en un modelo que explica el balance excitación/inhibición en la zona CA3 del hipocampo en condiciones control y su modificación después de crisis convulsivas.

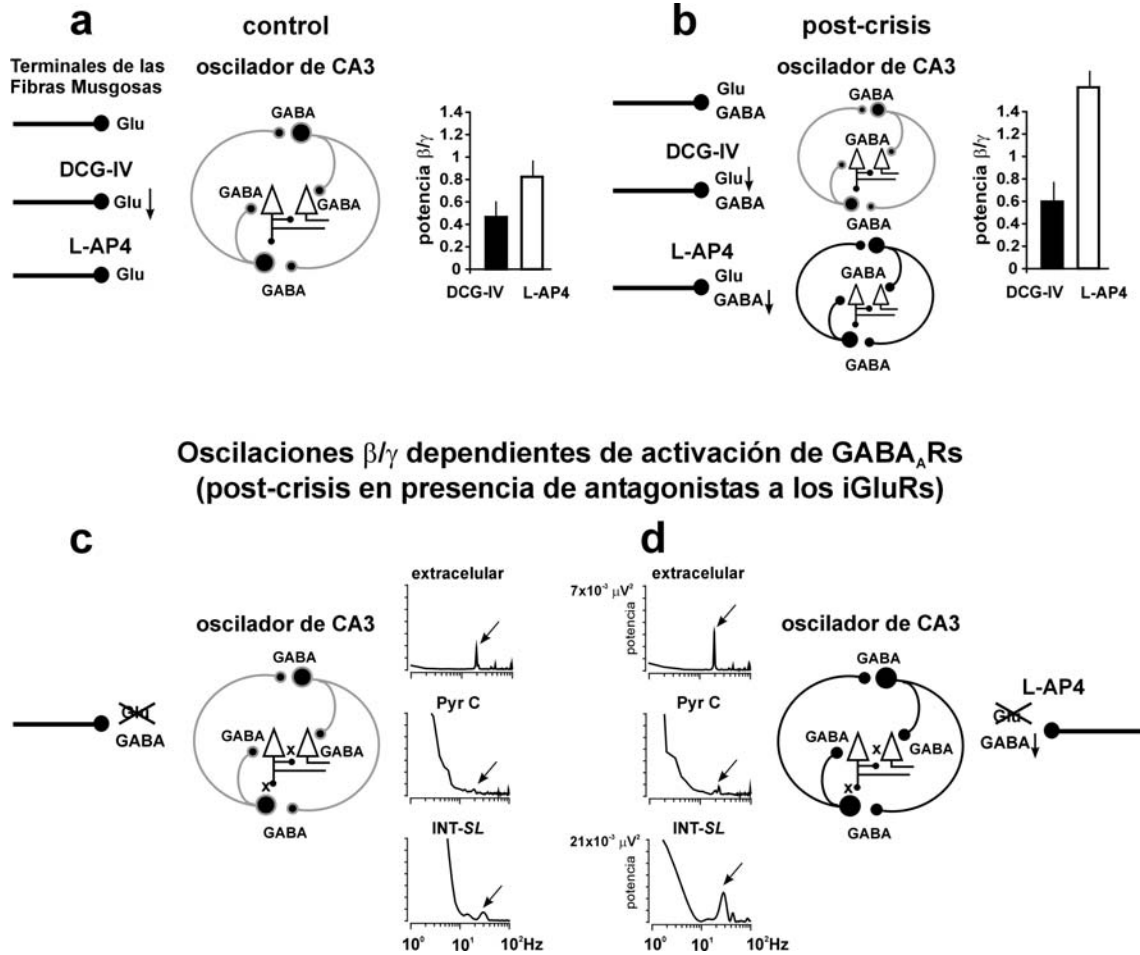


Figura 2. La actividad oscilatoria β/γ en la zona CA3 del hipocampo se inhibe por la transmisión GABAérgica aberrante proveniente de las FM. a). CA3 es un oscilador endógeno que recibe entradas glutamatergicas provenientes de los botones de las FM. La activación de los mGluR-II presinápticos por el agonista DCG-IV, inhibe la liberación de glutamato de las FM y deprime significativamente la actividad oscilatoria registrada en CA3 (columna negra). Sin embargo, la activación de los mGluR-III presinápticos por el agonista L-AP4, produce apenas una pequeña inhibición de esta actividad (columna blanca). **b).** En ratas que tuvieron crisis, la activación de los mGluR-III presinápticos con el L-AP4, que inhiben la liberación de GABA de las FM, produce un incremento significativo de las oscilaciones en la banda β/γ (columna blanca). Esto desenmascara el control inhibitorio tónico que producen las FM sobre la actividad oscilatoria de CA3. Este control se produce sobre un oscilador que depende de la activación de GABA_ARs puesto que se observa en presencia de antagonistas a los iGluRs (**c**, **d**). **c.** En efecto, en presencia de antagonistas a los iGluRs, las actividad β/γ dependiente de la activación de GABA_ARs puede ser registrada extracelularmente como oscilaciones poblacionales e intracelularmente como oscilaciones subumbrales en el potencial de membrana de interneuronas y, en menor proporción, células piramidales de CA3. **d).** La activación de los mGluR-III, inhibe la liberación de GABA de las FM y remueve la inhibición que éstas producen sobre las oscilaciones β/γ (flechas) en la zona CA3 del hipocampo. Esto se refleja en las oscilaciones subumbrales de membrana de las interneuronas, principalmente.

IMPLICACIONES FUNCIONALES

La arquitectura con alto número de proyecciones excitadoras recurrentes hace que la zona CA3 del hipocampo sea una estructura especialmente propensa para generar eventos epileptiformes (Turski *et al.*, 1983; Ben Ari, 1985; Rougier *et al.*, 1992; Du *et al.*, 1995; Avoli *et al.*, 2002). Evidencia experimental *in vitro* sugiere que la sincronización epileptiforme se origina en la corteza entorrinal y se propaga hacia el hipocampo a través de la vía perforante y del GD (Avoli *et al.*, 2002). Paradójicamente, la iniciación y el mantenimiento de las descargas ictales depende de la activación de GABA_AR (Avoli *et al.*, 2006). La sincronía local en las estructuras por las que se propaga la actividad epileptiforme depende de la transmisión GABAérgica rítmica y sincrónica generada por las redes locales de interneuronas (Traub *et al.*, 2004; Buzsaki *et al.*, 2004; Bartos *et al.*, 2007). Sin embargo, después de períodos de intensa actividad, las células granulares del GD expresan el fenotipo GABAérgico (revisado en Gutierrez, 2003; 2005). La síntesis y liberación de GABA proveniente de las FM está precedida y requiere de la entrada de Ca²⁺ a las células granulares y de la síntesis de proteínas (Gutierrez, 2002; Romo-Parra *et al.*, 2003; Gomez-Lira *et al.*, 2005). La señal GABAérgica de las FM, con diferente nivel de ruido, en términos de amplitud y frecuencia, podría modificar la dinámica de la inhibición rítmica y la integración de las entradas excitadoras en CA3. Dependiendo de estos parámetros, la liberación de GABA de las FM operaría marginalmente como una fuente de ruido sináptico, y de esta forma, regularía la operación de CA3, en particular limitando la regeneración de eventos epileptogénicos (Aradi & Soltesz, 2002; Traub *et al.*, 2004). Notablemente, registros *in vivo* indican que la actividad oscilatoria entre el GD y CA3 está débilmente acoplada (Csicsvari *et al.*, 2003). A pesar de que nuestros resultados *in vitro* apoyan en parte este escenario, también indican que la transmisión GABAérgica proveniente del GD constituye una señal fisiológica relevante que modula la actividad espontánea de CA3 probablemente al interferir con el flujo de información de la corteza entorrinal hacia el hipocampo. Las crisis convulsivas generalizadas vienen acompañadas de un período de depresión (depresión post-ictal), durante y tras el cual se desarrollan déficits cognitivos (Zeman *et al.*, 1998; Vingerhoets, 2006). Es posible que la depresión post-ictal sea una

consecuencia de los mecanismos inhibidores, responsables de finalizar la crisis epilépticas (Blumer D., 1992). La inhibición de la zona CA3 por el GABA liberado de las FM tras crisis convulsivas constituye un mecanismo que podría explicar estos déficits. No solo la transferencia de información del GD hacia la zona CA3 es mas compleja después de una crisis epiléptica (Gutierrez & Heinemann, 2001) por medio de un mecanismo de filtrado (Heinemann *et al.*, 1992) sino que las acciones del GD también modifican tónicamente la actividad espontánea del circuito de neuronas de CA3. La capacidad de expresar el fenotipo GABAérgico de las células granulares, le confiere al hipocampo una capacidad de adaptación notable ya que esta nueva entrada inhibidora tiende a contrarrestar el exceso de excitación en CA3, y su propagación hacia CA1 (Avoli *et al.*, 2002; Behrens *et al.*, 2005; Buzsaki & Chrobak, 2005; Nimmrich *et al.*, 2005). Este fenómeno cobra una importancia particular en casos en los que el aumento de la excitabilidad es extremo. Las crisis convulsivas y la epilepsia son los fenómenos que activan el fenotipo GABAérgico de las células granulares. Desde nuestra perspectiva, su significado funcional reviste gran importancia como un mecanismo que filtra información en el hipocampo.

CONCLUSIONES

Las fibras musgosas de las células granulares del hipocampo de la rata poseen una plasticidad que les permite expresar transitoriamente un fenotipo GABAérgico, además del glutamatérgico. En los animales adultos, la expresión de este fenotipo está condicionada a períodos de intensa actividad de disparo de potenciales de acción e hiperexcitabilidad de las células granulares. Esto permite que, tras una o varias crisis convulsivas, las fibras musgosas operen como una proyección glutamatérgica/GABAérgica liberando ambos neurotransmisores que activan receptores pre- y postsinápticos. Esto previene la acumulación de excitación y modula la integración de la actividad espontánea de la red de células piramidales e interneuronas de CA3. En particular, la señal GABAérgica proveniente del GD inhibe las oscilaciones β/γ poblacionales de CA3 y esto podría interferir con el flujo de información de la corteza

entorrinal hacia el hipocampo. La emergencia de la inhibición del GD sobre CA3 por la liberación de GABA del las FM podría relacionarse con en el deterioro de las funciones cognitivas (fallas en la consolidación de la memoria) que se manifiestan transitoriamente en pacientes epilépticos después de tener crisis convulsivas parciales o generalizadas. A partir de los resultados que se obtuvieron en esta tesis, resulta atractivo diseñar y validar experimentos que nos permitan identificar los efectos de este fenómeno sobre la formación de memorias episódicas y correlacionarlos con la actividad unitaria de las neuronas de CA3. Es probable que la coliberación de glutamato/GABA de las FM produzca efectos deletéreos sobre los procesos de codificación, almacenamiento y recuperación de información sensorial que desarrolla el hipocampo.

REFERENCIAS

1. Acsády, L., Kamondi, A., Sik, A., Freund, T., & Buzsáki, G. (1998). GABAergic cells are the major postsynaptic targets of mossy fibers in the rat hippocampus. *J Neurosci*, **18**, 3386-3403.
2. Alarcon, G., Binnie, C. D., Elwes, R. D., & Polkey, C. E. (1995). Power spectrum and intracranial EEG patterns at seizure onset in partial epilepsy. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol*, **94**, 326-337.
3. Amaral, D. G. (1979). Synaptic extensions from the mossy fibers of the fascia dentata. *Anat.Embryol.(Berl)* **155**, 241-251.
4. Amaral, D. G. & Dent, J. A. (1981). Development of the mossy fibers of the dentate gyrus: I. A light and electron microscopic study of the mossy fibers and their expansions. *J Comp Neurol*, **195**, 51-86.
5. Amaral, D. G., Ishizuka, N., & Claiborne, B. (1990). Neurons, numbers and the hippocampal network. *Prog.Brain Res*, **83**, 1-11.
6. Amaral, D. G. & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* **31**, 571-591.
7. Amzica, F. & Neckelmann, D. (1999). Membrane capacitance of cortical neurons and glia during sleep oscillations and spike-wave seizures. *J Neurophysiol*, **82**, 2731-2746.
8. Arabadzisz, D. & Freund, T. F. (1999). Changes in excitatory and inhibitory circuits of the rat hippocampus 12-14 months after complete forebrain ischemia. *Neuroscience* **92**, 27-45.
9. Aradi, I., Santhakumar, V., Chen, K., & Soltesz, I. (2002). Postsynaptic effects of GABAergic synaptic diversity: regulation of neuronal excitability by changes in IPSC variance. *Neuropharmacology* **43**, 511-522.
10. Aradi, I. & Soltesz, I. (2002). Modulation of network behaviour by changes in variance in interneuronal properties. *J.Physiol* **538**, 227-251.
11. Avoli, M., Biagini, G., & de Curtis, M. (2006). Do interictal spikes sustain seizures and epileptogenesis? *Epilepsy Curr*, **6**, 203-207.

12. Avoli, M., D'Antuono, M., Louvel, J., Kohling, R., Biagini, G., Pumain, R., D'Arcangelo, G., & Tancredi, V. (2002). Network and pharmacological mechanisms leading to epileptiform synchronization in the limbic system in vitro. *Prog.Neurobiol.* **68**, 167-207.
13. Baker, P. M., Pennefather, P. S., Orser, B. A., & Skinner, F. K. (2002). Disruption of coherent oscillations in inhibitory networks with anesthetics: role of GABA(A) receptor desensitization. *J.Neurophysiol.* **88**, 2821-2833.
14. Barnard, E. A., Skolnick, P., Olsen, R. W., Mohler, H., Sieghart, W., Biggio, G., Braestrup, C., Bateson, A. N., & Langer, S. Z. (1998). International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acidA receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. *Pharmacol.Rev.* **50**, 291-313.
15. Bartos, M., Vida, I., Frotscher, M., Meyer, A., Monyer, H., Geiger, J. R., & Jonas, P. (2002). Fast synaptic inhibition promotes synchronized gamma oscillations in hippocampal interneuron networks. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **99**, 13222-13227.
16. Bartos, M., Vida, I., & Jonas, P. (2007). Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nat.Rev.Neurosci.* **8**, 45-56.
17. Bean, B. P. (2007). The action potential in mammalian central neurons. *Nat.Rev.Neurosci.* **8**, 451-465.
18. Behrens, C. J., van den Boom, L. P., de Hoz, L., Friedman, A., & Heinemann, U. (2005). Induction of sharp wave-ripple complexes in vitro and reorganization of hippocampal networks. *Nat.Neurosci.* **8**, 1560-1567.
19. Beldhuis, H. J., Suzuki, T., Pijn, J. P., Teisman, A., Lopes da Silva, F. H., & Bohus, B. (1993). Propagation of epileptiform activity during development of amygdala kindling in rats: linear and non-linear association between ipsi- and contralateral sites. *Eur.J Neurosci.* **5**, 944-954.
20. Ben Ari, Y. (1985). Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* **14**, 375-403.
21. Bergersen, L., Ruiz, A., Bjaalie, J. G., Kullmann, D. M., & Gundersen, V. (2003). GABA and GABAA receptors at hippocampal mossy fibre synapses. *Eur.J.Neurosci.* **18**, 931-941.
22. Berzhanskaya, J., Urban, N. N., & Barrionuevo, G. (1998). Electrophysiological and pharmacological characterization of the direct perforant path input to hippocampal area CA3. *J Neurophysiol.* **79**, 2111-2118.

23. Bilkey, D. K. & Goddard, G. V. (1985). Medial septal facilitation of hippocampal granule cell activity is mediated by inhibition of inhibitory interneurons. *Brain Res.* **361**, 99-106.
24. Blackstad, T. W. & Kjaerheim, A. (1961). Special axo-dendritic synapses in the hippocampal cortex: electron and light microscopic studies on the layer of mossy fibers. *J Comp Neurol.* **117**, 133-159.
25. Blumer, D. (1992). Postictal depression: significance for the neurobehavioral disorder of epilepsy. *J Epilepsy* **5**, 214-219.
26. Borck, C. & Jefferys, J. G. (1999). Seizure-like events in disinhibited ventral slices of adult rat hippocampus. *J Neurophysiol.* **82**, 2130-2142.
27. Bormann, J. (1988). Electrophysiology of GABA_A and GABA_B receptor subtypes. *Trends Neurosci.* **11**, 112-116.
28. Bormann, J., Hamill, O. P., & Sakmann, B. (1987). Mechanism of anion permeation through channels gated by glycine and gamma-aminobutyric acid in mouse cultured spinal neurons. *J. Physiol* **385**, 243-286.
29. Bourne, J. A., Warner, C. E., Upton, D. J., & Rosa, M. G. (2007). Chemoarchitecture of the middle temporal visual area in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*): laminar distribution of calcium-binding proteins (calbindin, parvalbumin) and nonphosphorylated neurofilament. *J Comp Neurol.* **500**, 832-849.
30. Bracci, E., Vreugdenhil, M., Hack, S. P., & Jefferys, J. G. (1999). On the synchronizing mechanisms of tetanically induced hippocampal oscillations. *J. Neurosci.* **19**, 8104-8113.
31. Bragin, A., Csicsvari, J., Penttonen, M., & Buzsáki, G. (1997). Epileptic afterdischarge in the hippocampal-entorhinal system: current source density and unit studies. *Neuroscience* **76**, 1187-1203.
32. Bragin, A., Jando, G., Nadasdy, Z., Hetke, J., Wise, K., & Buzsáki, G. (1995a). Gamma (40-100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J Neurosci.* **15**, 47-60.
33. Bragin, A., Jando, G., Nadasdy, Z., van Landeghem, M., & Buzsáki, G. (1995b). Dentate EEG spikes and associated interneuronal population bursts in the hippocampal hilar region of the rat. *J. Neurophysiol.* **73**, 1691-1705.

34. Brown, T. H. & Johnston, D. (1983). Voltage-clamp analysis of mossy fiber synaptic input to hippocampal neurons. *J Neurophysiol.* **50**, 487-507.
35. Buhl, E. H., Cobb, S. R., Halasy, K., & Somogyi, P. (1995). Properties of unitary IPSPs evoked by anatomically identified basket cells in the rat hippocampus. *Eur.J.Neurosci.* **7**, 1989-2004.
36. Buhl, E. H., Halasy, K., & Somogyi, P. (1994). Diverse sources of hippocampal unitary inhibitory postsynaptic potentials and the number of synaptic release sites. *Nature* **368**, 823-828.
37. Buzsaki, G. (1989). Two-stage model of memory trace formation: a role for "noisy" brain states. *Neuroscience* **31**, 551-570.
38. Buzsaki, G. (1996). The hippocampo-neocortical dialogue. *Cereb.Cortex* **6**, 81-92.
39. Buzsaki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*, 1 ed. Oxford University Press.
40. Buzsaki, G. & Chrobak, J. J. (1995). Temporal structure in spatially organized neuronal ensembles: a role for interneuronal networks. *Curr.Opin.Neurobiol.* **5**, 504-510.
41. Buzsaki, G. & Chrobak, J. J. (2005). Synaptic plasticity and self-organization in the hippocampus. *Nat.Neurosci.* **8**, 1418-1420.
42. Buzsaki, G. & Draguhn, A. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *Science* **304**, 1926-1929.
43. Buzsaki, G., Geisler, C., Henze, D. A., & Wang, X. J. (2004). Interneuron Diversity series: Circuit complexity and axon wiring economy of cortical interneurons. *Trends Neurosci.* **27**, 186-193.
44. Buzsaki, G., Leung, L. W., & Vanderwolf, C. H. (1983). Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Res.* **287**, 139-171.
45. Buzsaki, G., Penttonen, M., Nadasdy, Z., & Bragin, A. (1996). Pattern and inhibition-dependent invasion of pyramidal cell dendrites by fast spikes in the hippocampus in vivo. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **93**, 9921-9925.
46. Claiborne, B. J., Amaral, D. G., & Cowan, W. M. (1986). A light and electron microscopic analysis of the mossy fibers of the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol.* **246**, 435-458.

47. Claiborne, B. J., Amaral, D. G., & Cowan, W. M. (1990). Quantitative, three-dimensional analysis of granule cell dendrites in the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol.* **302**, 206-219.
48. Clark, J. & Plonsey, R. (1966). A mathematical evaluation of the core conductor model. *Biophys.J* **6**, 95-112.
49. Cobb, S. R., Buhl, E. H., Halasy, K., Paulsen, O., & Somogyi, P. (1995). Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* **378**, 75-78.
50. Cobb, S. R., Halasy, K., Vida, I., Nyiri, G., Tamas, G., Buhl, E. H., & Somogyi, P. (1997). Synaptic effects of identified interneurons innervating both interneurons and pyramidal cells in the rat hippocampus. *Neuroscience* **79**, 629-648.
51. Conn, P. J. & Pin, J. P. (1997). Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* **37**, 205-237.
52. Contractor, A., Swanson, G. T., Sailer, A., O'Gorman, S., & Heinemann, S. F. (2000). Identification of the kainate receptor subunits underlying modulation of excitatory synaptic transmission in the CA3 region of the hippocampus. *J Neurosci.* **20**, 8269-8278.
53. Contreras, D., Destexhe, A., Sejnowski, T. J., & Steriade, M. (1996). Control of spatiotemporal coherence of a thalamic oscillation by corticothalamic feedback. *Science* **274**, 771-774.
54. Crawford, I. L. & Connor, J. D. (1972). Zinc in maturing rat brain: hippocampal concentration and localization. *J Neurochem.* **19**, 1451-1458.
55. Crawford, I. L. & Connor, J. D. (1973). Localization and release of glutamic acid in relation to the hippocampal mossy fibre pathway. *Nature* **244**, 442-443.
56. Crowell, B. (1998). *Vibrations and Waves*, 2.2 ed. Fullerton, California.
57. Csicsvari, J., Hirase, H., Czurko, A., & Buzsaki, G. (1998). Reliability and state dependence of pyramidal cell-interneuron synapses in the hippocampus: an ensemble approach in the behaving rat. *Neuron* **21**, 179-189.
58. Csicsvari, J., Hirase, H., Czurko, A., Mamiya, A., & Buzsaki, G. (1999). Oscillatory coupling of hippocampal pyramidal cells and interneurons in the behaving Rat. *J.Neurosci.* **19**, 274-287.

59. Csicsvari, J., Jamieson, B., Wise, K. D., & Buzsaki, G. (2003). Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron* **37**, 311-322.
60. D'Antuono, M., Benini, R., Biagini, G., D'Arcangelo, G., Barbarosie, M., Tancredi, V., & Avoli, M. (2002). Limbic network interactions leading to hyperexcitability in a model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurophysiol.* **87**, 634-639.
61. Dale, H. (1935). Pharmacology and nerve-endings. *Proc.R.Soc.Med.* **28**, 319-332.
62. Davis, G. W. & Murphey, R. K. (1993). A role for postsynaptic neurons in determining presynaptic release properties in the cricket CNS: evidence for retrograde control of facilitation. *J Neurosci.* **13**, 3827-3838.
63. Debener, S., Herrmann, C. S., Kranczioch, C., Gembris, D., & Engel, A. K. (2003). Top-down attentional processing enhances auditory evoked gamma band activity. *Neuroreport* **14**, 683-686.
64. Destexhe, A., Contreras, D., & Steriade, M. (1998). Mechanisms underlying the synchronizing action of corticothalamic feedback through inhibition of thalamic relay cells. *J Neurophysiol.* **79**, 999-1016.
65. Destexhe, A., Contreras, D., & Steriade, M. (1999). Spatiotemporal analysis of local field potentials and unit discharges in cat cerebral cortex during natural wake and sleep states. *J. Neurosci.* **19**, 4595-4608.
66. Destexhe, A. & Pare, D. (1999). Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons in vivo. *J Neurophysiol.* **81**, 1531-1547.
67. Didier, A., Carleton, A., Bjaalie, J. G., Vincent, J. D., Ottersen, O. P., Storm-Mathisen, J., & Lledo, P. M. (2001). A dendrodendritic reciprocal synapse provides a recurrent excitatory connection in the olfactory bulb. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **98**, 6441-6446.
68. Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol.Rev.* **51**, 7-61.
69. Du, F., Eid, T., Lothman, E. W., Kohler, C., & Schwarcz, R. (1995). Preferential neuronal loss in layer III of the medial entorhinal cortex in rat models of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* **15**, 6301-6313.
70. Durand, D. M. & Bikson, M. (2001). Suppression and control of epileptiform activity by electrical stimulation: a review. *Proceedings of the IEEE* **89**, 1065-1082.

71. Eichenbaum, H. (2000). A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat.Rev.Neurosci.* **1**, 41-50.
72. Eichenbaum, H., Dudchenko, P., Wood, E., Shapiro, M., & Tanila, H. (1999). The hippocampus, memory, and place cells: is it spatial memory or a memory space? *Neuron* **23**, 209-226.
73. Ekstrom, A. D., Kahana, M. J., Caplan, J. B., Fields, T. A., Isham, E. A., Newman, E. L., & Fried, I. (2003). Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature* **425**, 184-188.
74. Engel, A. K., Fries, P., & Singer, W. (2001). Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nat.Rev.Neurosci.* **2**, 704-716.
75. Engel, A. K., Konig, P., Gray, C. M., & Singer, W. (1990). Stimulus-Dependent Neuronal Oscillations in Cat Visual Cortex: Inter-Columnar Interaction as Determined by Cross-Correlation Analysis. *Eur.J.Neurosci.* **2**, 588-606.
76. Faulkner, H. J., Traub, R. D., & Whittington, M. A. (1998). Disruption of synchronous gamma oscillations in the rat hippocampal slice: a common mechanism of anaesthetic drug action. *Br.J.Pharmacol.* **125**, 483-492.
77. Faulkner, H. J., Traub, R. D., & Whittington, M. A. (1999). Anaesthetic/amnesic agents disrupt beta frequency oscillations associated with potentiation of excitatory synaptic potentials in the rat hippocampal slice. *Br.J.Pharmacol.* **128**, 1813-1825.
78. Felleman, D. J. & Van Essen, D. C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb.Cortex* **1**, 1-47.
79. Fellous, J. M., Houweling, A. R., Modi, R. H., Rao, R. P., Tiesinga, P. H., & Sejnowski, T. J. (2001). Frequency dependence of spike timing reliability in cortical pyramidal cells and interneurons. *J.Neurophysiol.* **85**, 1782-1787.
80. Ferrillo, F., Beelke, M., & Nobili, L. (2000). Sleep EEG synchronization mechanisms and activation of interictal epileptic spikes. *Clin.Neurophysiol.* **111 Suppl 2**, S65-S73.
81. Finnerty, G. T. & Jefferys, J. G. (2000). 9-16 Hz oscillation precedes secondary generalization of seizures in the rat tetanus toxin model of epilepsy. *J Neurophysiol.* **83**, 2217-2226.
82. Fisahn, A., Pike, F. G., Buhl, E. H., & Paulsen, O. (1998). Cholinergic induction of network oscillations at 40 Hz in the hippocampus in vitro. *Nature* **394**, 186-189.

83. Fisher, R. S., Webber, W. R., Lesser, R. P., Arroyo, S., & Uematsu, S. (1992). High-frequency EEG activity at the start of seizures. *J Clin. Neurophysiol.* **9**, 441-448.
84. Forster, E., Zhao, S., & Frotscher, M. (2006). Laminating the hippocampus. *Nat.Rev.Neurosci.* **7**, 259-267.
85. Foster, D. J. & Wilson, M. A. (2006). Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* **440**, 680-683.
86. Freeman, J. A. & Nicholson, C. (1975). Experimental optimization of current source-density technique for anuran cerebellum. *J.Neurophysiol.* **38**, 369-382.
87. Freund, T. F. (2003). Interneuron Diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci.* **26**, 489-495.
88. Freund, T. F. & Buzsaki, G. (1996). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* **6**, 347-470.
89. Freund, T. F. & Gulyas, A. I. (1997). Inhibitory control of GABAergic interneurons in the hippocampus. *Can.J Physiol Pharmacol.* **75**, 479-487.
90. Fries, P., Reynolds, J. H., Rorie, A. E., & Desimone, R. (2001). Modulation of oscillatory neuronal synchronization by selective visual attention. *Science* **291**, 1560-1563.
91. Frotscher, M. (1985). Mossy fibres form synapses with identified pyramidal basket cells in the CA3 region of the guinea-pig hippocampus: a combined Golgi-electron microscope study. *J Neurocytol.* **14**, 245-259.
92. Frotscher, M., Soriano, E., & Misgeld, U. (1994). Divergence of hippocampal mossy fibers. *Synapse* **16**, 148-160.
93. Gibson, J. R., Beierlein, M., & Connors, B. W. (1999). Two networks of electrically coupled inhibitory neurons in neocortex. *Nature* **402**, 75-79.
94. Gillespie, D. C., Kim, G., & Kandler, K. (2005). Inhibitory synapses in the developing auditory system are glutamatergic. *Nat.Neurosci.* **8**, 332-338.
95. Gloor, P., Vera, C. L., & Sperti, L. (1963). Electrophysiological studies of hippocampal neurons. I. Configuration and laminar analysis of the "resting" potential gradient of the main-transient

- response to perforant path, fimbrial and mossy fiber volleys and of “spontaneous” activity. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.* **15**, 353-378.
96. Golarai, G. & Sutula, T. P. (1996a). Bilateral organization of parallel and serial pathways in the dentate gyrus demonstrated by current-source density analysis in the rat. *J Neurophysiol.* **75**, 329-342.
 97. Golarai, G. & Sutula, T. P. (1996b). Functional alterations in the dentate gyrus after induction of long-term potentiation, kindling, and mossy fiber sprouting. *J Neurophysiol.* **75**, 343-353.
 98. Gold, C., Henze, D. A., Koch, C., & Buzsaki, G. (2006). On the origin of the extracellular action potential waveform: A modeling study. *J.Neurophysiol.* **95**, 3113-3128.
 99. Gomez-Lira, G., Lamas, M., Romo-Parra, H., & Gutierrez, R. (2005). Programmed and induced phenotype of the hippocampal granule cells. *J.Neurosci.* **25**, 6939-6946.
 100. Gomez-Lira, G., Trillo, E., Ramirez, M., Asai, M., Sitges, M., & Gutierrez, R. (2002). The expression of GABA in mossy fiber synaptosomes coincides with the seizure-induced expression of GABAergic transmission in the mossy fiber synapse. *Exp.Neurol.* **177**, 276-283.
 101. Gray, C. M. (1999). The temporal correlation hypothesis of visual feature integration: still alive and well. *Neuron* **24**, 31-25.
 102. Gray, C. M. & Singer, W. (1989). Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **86**, 1698-1702.
 103. Gulyas, A. I. & Freund, T. F. (1996). Pyramidal cell dendrites are the primary targets of calbindin D28k-immunoreactive interneurons in the hippocampus. *Hippocampus* **6**, 525-534.
 104. Gulyas, A. I., Miles, R., Sik, A., Toth, K., Tamamaki, N., & Freund, T. F. (1993). Hippocampal pyramidal cells excite inhibitory neurons through a single release site. *Nature* **366**, 683-687.
 105. Gupta, A., Wang, Y., & Markram, H. (2000). Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science* **287**, 273-278.
 106. Gutierrez, R. (2000). Seizures induce simultaneous GABAergic and glutamatergic transmission in the dentate gyrus-CA3 system. *J Neurophysiol.* **84**, 3088-3090.

107. Gutierrez, R. (2002). Activity-dependent expression of simultaneous glutamatergic and GABAergic neurotransmission from the mossy fibers in vitro. *J Neurophysiol.* **87**, 2562-2570.
108. Gutierrez, R. (2003). The GABAergic phenotype of the "glutamatergic" granule cells of the dentate gyrus. *Prog.Neurobiol.* **71**, 337-358.
109. Gutierrez, R. (2005). The dual glutamatergic–GABAergic phenotype of hippocampal granule cells. *Trends in Neuroscience* **28**, 297-303.
110. Gutierrez, R. & Heinemann, U. (1999). Synaptic reorganization in explanted cultures of rat hippocampus. *Brain Res.* **815**, 304-316.
111. Gutierrez, R. & Heinemann, U. (2001). Kindling induces transient fast inhibition in the dentate gyrus–CA3 projection. *Eur.J Neurosci.* **13**, 1371-1379.
112. Gutierrez, R., Romo-Parra, H., Maqueda, J., Vivar, C., Ramirez, M., Morales, M. A., & Lamas, M. (2003). Plasticity of the GABAergic phenotype of the "glutamatergic" granule cells of the rat dentate gyrus. *J Neurosci.* **23**, 5594-5598.
113. Haider, B., Duque, A., Hasenstaub, A. R., & McCormick, D. A. (2006). Neocortical network activity in vivo is generated through a dynamic balance of excitation and inhibition. *J Neurosci.* **26**, 4535-4545.
114. Hajos, N., Palhalmi, J., Mann, E. O., Nemeth, B., Paulsen, O., & Freund, T. F. (2004). Spike timing of distinct types of GABAergic interneuron during hippocampal gamma oscillations in vitro. *J Neurosci.* **24**, 9127-9137.
115. Hasenstaub, A., Shu, Y., Haider, B., Kraushaar, U., Duque, A., & McCormick, D. A. (2005). Inhibitory postsynaptic potentials carry synchronized frequency information in active cortical networks. *Neuron* **47**, 423-435.
116. Heinemann, U., Beck, H., Dreier, J. P., Ficker, E., Stabel, J., & Zhang, C. L. (1992). The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity. *Epilepsy Res.Suppl* **7**, 273-280.
117. Henze, D. A., Borhegyi, Z., Csicsvari, J., Mamiya, A., Harris, K. D., & Buzsaki, G. (2000). Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo. *J.Neurophysiol.* **84**, 390-400.

118. Henze, D. A., Wittner, L., & Buzsaki, G. (2002). Single granule cells reliably discharge targets in the hippocampal CA3 network in vivo. *Nat.Neurosci.* **5**, 790-795.
119. Herrmann, C. S. & Demiralp, T. (2005). Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. *Clin.Neurophysiol.* **116**, 2719-2733.
120. Herrmann, C. S., Lenz, D., Junge, S., Busch, N. A., & Maess, B. (2004a). Memory-matches evoke human gamma-responses. *BMC.Neurosci.* **5**, 13.
121. Herrmann, C. S., Munk, M. H., & Engel, A. K. (2004b). Cognitive functions of gamma-band activity: memory match and utilization. *Trends Cogn Sci.* **8**, 347-355.
122. Hodgkin, A. L. (1977). Lord Adrian, 1889-1977. *Nature* **269**, 543-544.
123. Hollmann, M. & Heinemann, S. (1994). Cloned glutamate receptors. *Annu.Rev.Neurosci.* **17**, 31-108.
124. Hopfield, J. J. & Tank, D. W. (1986). Computing with neural circuits: a model. *Science* **233**, 625-633.
125. Hormuzdi, S. G., Filippov, M. A., Mitropoulou, G., Monyer, H., & Bruzzone, R. (2004). Electrical synapses: a dynamic signaling system that shapes the activity of neuronal networks. *Biochim.Biophys.Acta* **1662**, 113-137.
126. Hu, H., Vervaeke, K., & Storm, J. F. (2002). Two forms of electrical resonance at theta frequencies, generated by M-current, h-current and persistent Na⁺ current in rat hippocampal pyramidal cells. *J.Physiol* **545**, 783-805.
127. Huang, Y. Y. & Kandel, E. R. (2005). Theta frequency stimulation induces a local form of late phase LTP in the CA1 region of the hippocampus. *Learn.Mem.* **12**, 587-593.
128. Hutcheon, B., Miura, R. M., & Puil, E. (1996). Subthreshold membrane resonance in neocortical neurons. *J.Neurophysiol.* **76**, 683-697.
129. Hutcheon, B. & Yarom, Y. (2000). Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons. *Trends Neurosci.* **23**, 216-222.
130. Ikegaya, Y., Aaron, G., Cossart, R., Aronov, D., Lampl, I., Ferster, D., & Yuste, R. (2004). Synfire chains and cortical songs: temporal modules of cortical activity. *Science* **304**, 559-564.

131. Ishizuka, N., Cowan, W. M., & Amaral, D. G. (1995). A quantitative analysis of the dendritic organization of pyramidal cells in the rat hippocampus. *J.Comp Neurol.* **362**, 17-45.
132. Ishizuka, N., Weber, J., & Amaral, D. G. (1990). Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *J Comp Neurol.* **295**, 580-623.
133. Isomura, Y., Sirota, A., Ozen, S., Montgomery, S., Mizuseki, K., Henze, D. A., & Buzsaki, G. (2006). Integration and segregation of activity in entorhinal-hippocampal subregions by neocortical slow oscillations. *Neuron* **52**, 871-882.
134. Jefferys, J. G. R. (2003). Models and Mechanisms of Experimental Epilepsies. *Epilepsia* **44**, 44-50.
135. Ji, D. & Wilson, M. A. (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat.Neurosci.* **10**, 100-107.
136. Johnston D. & Amaral D.G. (1998). Hippocampus. In *The synaptic organization of the Brain.*, ed. Sheperd G.M., Oxford University Press, New York.
137. Jonas, P., Bischofberger, J., Fricker, D., & Miles, R. (2004). Interneuron Diversity series: Fast in, fast out--temporal and spatial signal processing in hippocampal interneurons. *Trends Neurosci.* **27**, 30-40.
138. Jonas, P., Bischofberger, J., & Sandkuhler, J. (1998). Corelease of two fast neurotransmitters at a central synapse. *Science* **281**, 419-424.
139. Jung, M. W. & McNaughton, B. L. (1993). Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer. *Hippocampus* **3**, 165-182.
140. Kaila, K. (1994). Ionic basis of GABAA receptor channel function in the nervous system. *Prog.Neurobiol.* **42**, 489-537.
141. Kamiya, H. & Ozawa, S. (1999). Dual mechanism for presynaptic modulation by axonal metabotropic glutamate receptor at the mouse mossy fibre-CA3 synapse. *J Physiol* **518 (Pt 2)**, 497-506.
142. Kamiya, H. & Ozawa, S. (2000). Kainate receptor-mediated presynaptic inhibition at the mouse hippocampal mossy fibre synapse. *J.Physiol* **523 Pt 3**, 653-665.

143. Kamiya, H., Shinozaki, H., & Yamamoto, C. (1996). Activation of metabotropic glutamate receptor type 2/3 suppresses transmission at rat hippocampal mossy fibre synapses. *J Physiol* **493** (Pt 2), 447-455.
144. Kasyanov, A. M., Safiulina, V. F., Voronin, L. L., & Cherubini, E. (2004). GABA-mediated giant depolarizing potentials as coincidence detectors for enhancing synaptic efficacy in the developing hippocampus. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **101**, 3967-3972.
145. Katz, P. S., Kirk, M. D., & Govind, C. K. (1993). Facilitation and depression at different branches of the same motor axon: evidence for presynaptic differences in release. *J Neurosci.* **13**, 3075-3089.
146. Kawaguchi, Y., Katsumaru, H., Kosaka, T., Heizmann, C. W., & Hama, K. (1987). Fast spiking cells in rat hippocampus (CA1 region) contain the calcium-binding protein parvalbumin. *Brain Res.* **416**, 369-374.
147. Kawaguchi, Y. & Kubota, Y. (1997). GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb.Cortex* **7**, 476-486.
148. Kirkwood, A. & Bear, M. F. (1994a). Hebbian synapses in visual cortex. *J Neurosci.* **14**, 1634-1645.
149. Kirkwood, A. & Bear, M. F. (1994b). Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. *J Neurosci.* **14**, 3404-3412.
150. Kloosterman, F., Peloquin, P., & Leung, L. S. (2001). Apical and basal orthodromic population spikes in hippocampal CA1 in vivo show different origins and patterns of propagation. *J Neurophysiol.* **86**, 2435-2444.
151. Kopell, N. & Ermentrout, B. (2004). Chemical and electrical synapses perform complementary roles in the synchronization of interneuronal networks. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **101**, 15482-15487.
152. Kosaka, T., Katsumaru, H., Hama, K., Wu, J. Y., & Heizmann, C. W. (1987). GABAergic neurons containing the Ca²⁺-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus and dentate gyrus. *Brain Res.* **419**, 119-130.
153. Kreiter, A. K. & Singer, W. (1992). Oscillatory Neuronal Responses in the Visual Cortex of the Awake Macaque Monkey. *Eur.J.Neurosci.* **4**, 369-375.

154. Kulli, J. & Koch, C. (1991). Does anesthesia cause loss of consciousness? *Trends Neurosci.* **14**, 6-10.
155. Lacaille, J. C. (1991). Postsynaptic potentials mediated by excitatory and inhibitory amino acids in interneurons of stratum pyramidale of the CA1 region of rat hippocampal slices in vitro. *J.Neurophysiol.* **66**, 1441-1454.
156. Lacaille, J. C. & Schwartzkroin, P. A. (1988). Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. I. Intracellular response characteristics, synaptic responses, and morphology. *J.Neurosci.* **8**, 1400-1410.
157. Lamas, M., Gomez-Lira, G., & Gutierrez, R. (2001). Vesicular GABA transporter mRNA expression in the dentate gyrus and in mossy fiber synaptosomes. *Brain Res.Mol.Brain Res.* **93**, 209-214.
158. Langmoen, I. A. & ANDERSEN, P. (1981). The hippocampal slice in vitro. A description of the technique and some examples of the opportunities it offers. In *Electrophysiology of Isolated Mammalian CNS Preparations*, eds. Kerkut, G. A. & Wheal, H. V., Academic Press, London.
159. Lanthorn, T. H., Ganong, A. H., & Cotman, C. W. (1984). 2-Amino-4-phosphonobutyrate selectively blocks mossy fiber-CA3 responses in guinea pig but not rat hippocampus. *Brain Res.* **290**, 174-178.
160. Laurent, G. (2002). Olfactory network dynamics and the coding of multidimensional signals. *Nat.Rev.Neurosci.* **3**, 884-895.
161. Lawrence, J. J., Grinspan, Z. M., & McBain, C. J. (2004). Quantal transmission at mossy fibre targets in the CA3 region of the rat hippocampus. *J.Physiol* **554**, 175-193.
162. Lawrence, J. J. & McBain, C. J. (2003). Interneuron diversity series: containing the detonation--feedforward inhibition in the CA3 hippocampus. *Trends Neurosci.* **26**, 631-640.
163. Lehmann, H., Ebert, U., & Loscher, W. (1996). Immunocytochemical localization of GABA immunoreactivity in dentate granule cells of normal and kindled rats. *Neurosci.Lett.* **212**, 41-44.
164. Leung, L. S. & Yu, H. W. (1998). Theta-frequency resonance in hippocampal CA1 neurons in vitro demonstrated by sinusoidal current injection. *J.Neurophysiol.* **79**, 1592-1596.
165. Levy, W. B. & Steward, O. (1983). Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience* **8**, 791-797.

166. Li, X. G., Somogyi, P., Tepper, J. M., & Buzsaki, G. (1992). Axonal and dendritic arborization of an intracellularly labeled chandelier cell in the CA1 region of rat hippocampus. *Exp.Brain Res.* **90**, 519-525.
167. Lie, A. A., Becker, A., Behle, K., Beck, H., Malitschek, B., Conn, P. J., Kuhn, R., Nitsch, R., Plaschke, M., Schramm, J., Elger, C. E., Wiestler, O. D., & Blumcke, I. (2000). Up-regulation of the metabotropic glutamate receptor mGluR4 in hippocampal neurons with reduced seizure vulnerability. *Ann.Neurol.* **47**, 26-35.
168. Llinas, R. & Ribary, U. (1993). Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **90**, 2078-2081.
169. Llinas, R., Ribary, U., Contreras, D., & Pedroarena, C. (1998). The neuronal basis for consciousness. *Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* **353**, 1841-1849.
170. Llinas, R. R. (1988). The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science* **242**, 1654-1664.
171. Maccaferri, G. & Lacaille, J. C. (2003). Interneuron Diversity series: Hippocampal interneuron classifications--making things as simple as possible, not simpler. *Trends Neurosci.* **26**, 564-571.
172. Maccaferri, G., Toth, K., & McBain, C. J. (1998). Target-specific expression of presynaptic mossy fiber plasticity. *Science* **279**, 1368-1370.
173. MacLeod, K. & Laurent, G. (1996). Distinct mechanisms for synchronization and temporal patterning of odor-encoding neural assemblies. *Science* **274**, 976-979.
174. Madison, D. V. & Nicoll, R. A. (1988). Enkephalin hyperpolarizes interneurons in the rat hippocampus. *J.Physiol* **398**, 123-130.
175. Makarenko, V. & Llinas, R. (1998). Experimentally determined chaotic phase synchronization in a neuronal system. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **95**, 15747-15752.
176. Mann, E. O., Radcliffe, C. A., & Paulsen, O. (2005a). Hippocampal gamma-frequency oscillations: from interneurons to pyramidal cells, and back. *J.Physiol* **562**, 55-63.
177. Mann, E. O., Suckling, J. M., Hajos, N., Greenfield, S. A., & Paulsen, O. (2005b). Perisomatic feedback inhibition underlies cholinergically induced fast network oscillations in the rat hippocampus in vitro. *Neuron* **45**, 105-117.

178. Manzoni, O. J., Castillo, P. E., & Nicoll, R. A. (1995). Pharmacology of metabotropic glutamate receptors at the mossy fiber synapses of the guinea pig hippocampus. *Neuropharmacology* **34**, 965-971.
179. Maqueda, J., Ramirez, M., Lamas, M., & Gutierrez, R. (2003). Glutamic acid decarboxylase (GAD)67, but not GAD65, is constitutively expressed during development and transiently overexpressed by activity in the granule cells of the rat. *Neurosci.Lett.* **353**, 69-71.
180. Markram, H., Lubke, J., Frotscher, M., & Sakmann, B. (1997). Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science* **275**, 213-215.
181. Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., & Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat.Rev.Neurosci.* **5**, 793-807.
182. Mayer, M. L. & Westbrook, G. L. (1987). Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurones. *J.Physiol* **394**, 501-527.
183. McBain, C. J. & Fisahn, A. (2001). Interneurons unbound. *Nat.Rev.Neurosci.* **2**, 11-23.
184. McCormick, D. A., Wang, Z., & Huguenard, J. (1993). Neurotransmitter control of neocortical neuronal activity and excitability. *Cereb.Cortex* **3**, 387-398.
185. Medvedev, A., Mackenzie, L., Hiscock, J. J., & Willoughby, J. O. (2000). Kainic acid induces distinct types of epileptiform discharge with differential involvement of hippocampus and neocortex. *Brain Res.Bull.* **52**, 89-98.
186. Medvedev, A. V. (2002). Epileptiform spikes desynchronize and diminish fast (gamma) activity of the brain. An "anti-binding" mechanism? *Brain Res.Bull.* **58**, 115-128.
187. Meeren, H., van Luijtelaar, G., Lopes, d. S., & Coenen, A. (2005). Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch.Neurol.* **62**, 371-376.
188. Mikkonen, J. E., Huttunen, J., & Penttonen, M. (2006). Contribution of a single CA3 neuron to network synchrony. *Neuroimage.* **31**, 1222-1227.
189. Miles, R. (1990). Synaptic excitation of inhibitory cells by single CA3 hippocampal pyramidal cells of the guinea-pig in vitro. *J.Physiol* **428**, 61-77.

190. Miles, R., Toth, K., Gulyas, A. I., Hajos, N., & Freund, T. F. (1996). Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron* **16**, 815-823.
191. Min, M. Y., Rusakov, D. A., & Kullmann, D. M. (1998). Activation of AMPA, kainate, and metabotropic receptors at hippocampal mossy fiber synapses: role of glutamate diffusion. *Neuron* **21**, 561-570.
192. Misgeld, U. & Frotscher, M. (1986). Postsynaptic-GABAergic inhibition of non-pyramidal neurons in the guinea-pig hippocampus. *Neuroscience* **19**, 193-206.
193. Mitzdorf, U. (1985). Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiol Rev.* **65**, 37-100.
194. Mody, I. & Pearce, R. A. (2004). Diversity of inhibitory neurotransmission through GABA(A) receptors. *Trends Neurosci.* **27**, 569-575.
195. Mori, M., Abegg, M. H., Gähwiler, B. H., & Gerber, U. (2004). A frequency-dependent switch from inhibition to excitation in a hippocampal unitary circuit. *Nature* **431**, 453-456.
196. Nadasdy, Z., Hirase, H., Czurko, A., Csicsvari, J., & Buzsáki, G. (1999). Replay and time compression of recurring spike sequences in the hippocampus. *J.Neurosci.* **19**, 9497-9507.
197. Nakamura, M., Sekino, Y., & Manabe, T. (2007). GABAergic interneurons facilitate mossy fiber excitability in the developing hippocampus. *J.Neurosci.* **27**, 1365-1373.
198. Nakazawa, K., Sun, L. D., Quirk, M. C., Rondi-Reig, L., Wilson, M. A., & Tonegawa, S. (2003). Hippocampal CA3 NMDA receptors are crucial for memory acquisition of one-time experience. *Neuron* **38**, 305-315.
199. Nase, G., Singer, W., Monyer, H., & Engel, A. K. (2003). Features of neuronal synchrony in mouse visual cortex. *J Neurophysiol.* **90**, 1115-1123.
200. Nicoll, R. A. & Schmitz, D. (2005). Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nat.Rev.Neurosci.* **6**, 863-876.
201. Nimrich, V., Maier, N., Schmitz, D., & Draguhn, A. (2005). Induced sharp wave-ripple complexes in the absence of synaptic inhibition in mouse hippocampal slices. *J Physiol* **563**, 663-670.

202. Nusser, Z., Lujan, R., Laube, G., Roberts, J. D., Molnar, E., & Somogyi, P. (1998). Cell type and pathway dependence of synaptic AMPA receptor number and variability in the hippocampus. *Neuron* **21**, 545-559.
203. Nusser, Z. & Mody, I. (2002). Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells. *J. Neurophysiol.* **87**, 2624-2628.
204. O'Keefe, J. (1976). Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Exp. Neurol* **51**, 78-109.
205. O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.* **34**, 171-175.
206. O'Keefe, J. & Recce, M. L. (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus* **3**, 317-330.
207. Ohishi, H., Akazawa, C., Shigemoto, R., Nakanishi, S., & Mizuno, N. (1995). Distributions of the mRNAs for L-2-amino-4-phosphonobutyrate-sensitive metabotropic glutamate receptors, mGluR4 and mGluR7, in the rat brain. *J Comp Neurol.* **360**, 555-570.
208. Ohishi, H., Shigemoto, R., Nakanishi, S., & Mizuno, N. (1993). Distribution of the mRNA for a metabotropic glutamate receptor (mGluR3) in the rat brain: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol.* **335**, 252-266.
209. Oren, I., Mann, E. O., Paulsen, O., & Hajos, N. (2006). Synaptic currents in anatomically identified CA3 neurons during hippocampal gamma oscillations in vitro. *J. Neurosci.* **26**, 9923-9934.
210. Ottem, E. N., Godwin, J. G., Krishnan, S., & Petersen, S. L. (2004). Dual-phenotype GABA/glutamate neurons in adult preoptic area: sexual dimorphism and function. *J Neurosci.* **24**, 8097-8105.
211. Pape, H. C. & Driesang, R. B. (1998). Ionic mechanisms of intrinsic oscillations in neurons of the basolateral amygdaloid complex. *J. Neurophysiol.* **79**, 217-226.
212. Papp, E., Leinekugel, X., Henze, D. A., Lee, J., & Buzsaki, G. (2001). The apical shaft of CA1 pyramidal cells is under GABAergic interneuronal control. *Neuroscience* **102**, 715-721.
213. Parra, P., Gulyas, A. I., & Miles, R. (1998). How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron* **20**, 983-993.

214. Paxinos, G. & Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 4 ed. Academic Press, San Diego, California.
215. Penttonen, M., Kamondi, A., Acsady, L., & Buzsaki, G. (1998). Gamma frequency oscillation in the hippocampus of the rat: intracellular analysis in vivo. *Eur.J.Neurosci.* **10**, 718-728.
216. Penttonen, M., Kamondi, A., Sik, A., Acsady, L., & Buzsaki, G. (1997). Feed-forward and feed-back activation of the dentate gyrus in vivo during dentate spikes and sharp wave bursts. *Hippocampus* **7**, 437-450.
217. Peracchia, C. (2004). Chemical gating of gap junction channels; roles of calcium, pH and calmodulin. *Biochim.Biophys.Acta* **1662**, 61-80.
218. Perez Velazquez, J. L. & Carlen, P. L. (2000). Gap junctions, synchrony and seizures. *Trends Neurosci.* **23**, 68-74.
219. Peters, A. & Kara, D. A. (1985a). The neuronal composition of area 17 of rat visual cortex. I. The pyramidal cells. *J Comp Neurol.* **234**, 218-241.
220. Peters, A. & Kara, D. A. (1985b). The neuronal composition of area 17 of rat visual cortex. II. The nonpyramidal cells. *J Comp Neurol.* **234**, 242-263.
221. Peters, A., Kara, D. A., & Harriman, K. M. (1985). The neuronal composition of area 17 of rat visual cortex. III. Numerical considerations. *J Comp Neurol.* **238**, 263-274.
222. Pike, F. G., Goddard, R. S., Suckling, J. M., Ganter, P., Kasthuri, N., & Paulsen, O. (2000). Distinct frequency preferences of different types of rat hippocampal neurones in response to oscillatory input currents. *J.Physiol* **529 Pt 1**, 205-213.
223. Pin, J. P. & Duvoisin, R. (1995). The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology* **34**, 1-26.
224. Pinsky, P. F. & Rinzel, J. (1994). Intrinsic and network rhythmogenesis in a reduced Traub model for CA3 neurons. *J Comput.Neurosci.* **1**, 39-60.
225. Puil, E., Gimbarzevsky, B., & Miura, R. M. (1986). Quantification of membrane properties of trigeminal root ganglion neurons in guinea pigs. *J.Neurophysiol.* **55**, 995-1016.

226. Ramirez, M. & Gutierrez, R. (2001). Activity-dependent expression of GAD67 in the granule cells of the rat hippocampus. *Brain Res.* **917**, 139-146.
227. Rodriguez, E., George, N., Lachaux, J. P., Martinerie, J., Renault, B., & Varela, F. J. (1999). Perception's shadow: long-distance synchronization of human brain activity. *Nature* **397**, 430-433.
228. Roelfsema, P. R., Engel, A. K., Konig, P., & Singer, W. (1997). Visuomotor integration is associated with zero time-lag synchronization among cortical areas. *Nature* **385**, 157-161.
229. Rolls, E. T. (2000). Hippocampo-cortical and cortico-cortical backprojections. *Hippocampus* **10**, 380-388.
230. Romo-Parra, H., Vivar, C., Maqueda, J., Morales, M. A., & Gutierrez, R. (2003). Activity-dependent induction of multitransmitter signaling onto pyramidal cells and interneurons of hippocampal area CA3. *J Neurophysiol.* **89**, 3155-3167.
231. Rougier, A., Dartigues, J. F., Commenges, D., Claverie, B., Loiseau, P., & Cohadon, F. (1992). A longitudinal assessment of seizure outcome and overall benefit from 100 cortectomies for epilepsy. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* **55**, 762-767.
232. Rudolph, M., Pelletier, J. G., Pare, D., & Destexhe, A. (2005). Characterization of synaptic conductances and integrative properties during electrically induced EEG-activated states in neocortical neurons in vivo. *J Neurophysiol.* **94**, 2805-2821.
233. Rudolph, M., Pospischil, M., Timofeev, I., & Destexhe, A. (2007). Inhibition determines membrane potential dynamics and controls action potential generation in awake and sleeping cat cortex. *J Neurosci.* **27**, 5280-5290.
234. Ruiz, A., Fabian-Fine, R., Scott, R., Walker, M. C., Rusakov, D. A., & Kullmann, D. M. (2003). GABAA receptors at hippocampal mossy fibers. *Neuron* **39**, 961-973.
235. Safulina, V. F., Kasyanov, A. M., Sokolova, E. M., Cherubini, E., & Giniatullin, R. A. (2005). ATP contributes to the generation of network-driven giant depolarizing potentials in the neonatal rat hippocampus. *J Physiol.*
236. Samano, C., Zetina, M. E., Marin, M. A., Cifuentes, F., & Morales, M. A. (2006). Choline acetyl transferase and neuropeptide immunoreactivities are colocalized in somata, but preferentially localized in distinct axon fibers and boutons of cat sympathetic preganglionic neurons. *Synapse* **60**, 295-306.

237. Sandler, R. & Smith, A. D. (1991). Coexistence of GABA and glutamate in mossy fiber terminals of the primate hippocampus: an ultrastructural study. *J Comp Neurol.* **303**, 177-192.
238. Scanziani, M., Gahwiler, B. H., & Thompson, S. M. (1995). Presynaptic inhibition of excitatory synaptic transmission by muscarinic and metabotropic glutamate receptor activation in the hippocampus: are Ca²⁺ channels involved? *Neuropharmacology* **34**, 1549-1557.
239. Schmitz, D., Mellor, J., Frerking, M., & Nicoll, R. A. (2001). Presynaptic kainate receptors at hippocampal mossy fiber synapses. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **98**, 11003-11008.
240. Schwarzer, C. & Sperk, G. (1995). Hippocampal granule cells express glutamic acid decarboxylase-67 after limbic seizures in the rat. *Neuroscience* **69**, 705-709.
241. Shigemoto, R., Kinoshita, A., Wada, E., Nomura, S., Ohishi, H., Takada, M., Flor, P. J., Neki, A., Abe, T., Nakanishi, S., & Mizuno, N. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J Neurosci.* **17**, 7503-7522.
242. Shigemoto, R., Kulik, A., Roberts, J. D., Ohishi, H., Nusser, Z., Kaneko, T., & Somogyi, P. (1996). Target-cell-specific concentration of a metabotropic glutamate receptor in the presynaptic active zone. *Nature* **381**, 523-525.
243. Shimono, K., Brucher, F., Granger, R., Lynch, G., & Taketani, M. (2000). Origins and distribution of cholinergically induced beta rhythms in hippocampal slices. *J.Neurosci.* **20**, 8462-8473.
244. Sik, A., Penttonen, M., & Buzsaki, G. (1997). Interneurons in the hippocampal dentate gyrus: an in vivo intracellular study. *Eur.J Neurosci.* **9**, 573-588.
245. Sik, A., Penttonen, M., Ylinen, A., & Buzsaki, G. (1995). Hippocampal CA1 interneurons: an in vivo intracellular labeling study. *J Neurosci.* **15**, 6651-6665.
246. Sik, A., Ylinen, A., Penttonen, M., & Buzsaki, G. (1994). Inhibitory CA1-CA3-hilar region feedback in the hippocampus. *Science* **265**, 1722-1724.
247. Singer, W. (1993). Synchronization of cortical activity and its putative role in information processing and learning. *Annu.Rev.Physiol* **55**, 349-374.
248. Skaggs, W. E. & McNaughton, B. L. (1996). Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience. *Science* **271**, 1870-1873.

249. Sloviter, R. S., Dichter, M. A., Rachinsky, T. L., Dean, E., Goodman, J. H., Sollas, A. L., & Martin, D. L. (1996). Basal expression and induction of glutamate decarboxylase and GABA in excitatory granule cells of the rat and monkey hippocampal dentate gyrus. *J Comp Neurol.* **373**, 593-618.
250. Soltesz, I. & Deschenes, M. (1993). Low- and high-frequency membrane potential oscillations during theta activity in CA1 and CA3 pyramidal neurons of the rat hippocampus under ketamine-xylazine anesthesia. *J.Neurophysiol.* **70**, 97-116.
251. Somogyi, P. & Klausberger, T. (2005). Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J.Physiol* **562**, 9-26.
252. Somogyi, P., Nunzi, M. G., Gorio, A., & Smith, A. D. (1983). A new type of specific interneuron in the monkey hippocampus forming synapses exclusively with the axon initial segments of pyramidal cells. *Brain Res.* **259**, 137-142.
253. Somogyi, P., Tamas, G., Lujan, R., & Buhl, E. H. (1998). Salient features of synaptic organisation in the cerebral cortex. *Brain Res.Brain Res.Rev.* **26**, 113-135.
254. Song, S., Miller, K. D., & Abbott, L. F. (2000). Competitive Hebbian learning through spike-timing-dependent synaptic plasticity. *Nat.Neurosci.* **3**, 919-926.
255. Sossin, W. S., Sweet-Cordero, A., & Scheller, R. H. (1990). Dale's hypothesis revisited: different neuropeptides derived from a common prohormone are targeted to different processes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **87**, 4845-4848.
256. Spruston, N. & Johnston, D. (1992). Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons. *J.Neurophysiol.* **67**, 508-529.
257. Spruston, N., Lubke, J., & Frotscher, M. (1997). Interneurons in the stratum lucidum of the rat hippocampus: an anatomical and electrophysiological characterization. *J.Comp Neurol.* **385**, 427-440.
258. Steriade, M. & Amzica, F. (1996). Intracortical and corticothalamic coherency of fast spontaneous oscillations. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **93**, 2533-2538.
259. Steriade, M., Gloor, P., Llinas, R. R., Lopes de Silva, F. H., & Mesulam, M. M. (1990). Report of IFCN Committee on Basic Mechanisms. Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.* **76**, 481-508.

-
260. Stocker, M. (2004). Ca(2+)-activated K⁺ channels: molecular determinants and function of the SK family. *Nat.Rev.Neurosci.* **5**, 758-770.
261. Struber, D., Basar-Eroglu, C., Hoff, E., & Stadler, M. (2000). Reversal-rate dependent differences in the EEG gamma-band during multistable visual perception. *Int.J Psychophysiol.* **38**, 243-252.
262. Sutton, M. A. & Schuman, E. M. (2006). Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell* **127**, 49-58.
263. Takazawa, T., Saito, Y., Tsuzuki, K., & Ozawa, S. (2004). Membrane and firing properties of glutamatergic and GABAergic neurons in the rat medial vestibular nucleus. *J Neurophysiol.* **92**, 3106-3120.
264. Tamas, G., Buhl, E. H., Lorincz, A., & Somogyi, P. (2000). Proximally targeted GABAergic synapses and gap junctions synchronize cortical interneurons. *Nat.Neurosci.* **3**, 366-371.
265. Tiitinen, H., Sinkkonen, J., Reinikainen, K., Alho, K., Lavikainen, J., & Naatanen, R. (1993). Selective attention enhances the auditory 40-Hz transient response in humans. *Nature* **364**, 59-60.
266. Torrence C & Compo GP (1998). A practical guide to wavelet analysis. *Bull Amer Meteor Soc* **79**, 61-78.
267. Toth, K. & McBain, C. J. (1998). Afferent-specific innervation of two distinct AMPA receptor subtypes on single hippocampal interneurons. *Nat.Neurosci.* **1**, 572-578.
268. Toth, K., Soares, G., Lawrence, J. J., Philips-Tansey, E., & McBain, C. J. (2000). Differential mechanisms of transmission at three types of mossy fiber synapse. *J Neurosci.* **20**, 8279-8289.
269. Traub, R. D., Bibbig, A., Fisahn, A., LeBeau, F. E., Whittington, M. A., & Buhl, E. H. (2000). A model of gamma-frequency network oscillations induced in the rat CA3 region by carbachol in vitro. *Eur.J Neurosci.* **12**, 4093-4106.
270. Traub, R. D., Bibbig, A., LeBeau, F. E., Buhl, E. H., & Whittington, M. A. (2004). Cellular mechanisms of neuronal population oscillations in the hippocampus in vitro. *Annu.Rev.Neurosci.* **27**, 247-278.
271. Traub, R. D., Jefferys, J. G., Miles, R., Whittington, M. A., & Toth, K. (1994). A branching dendritic model of a rodent CA3 pyramidal neurone. *J Physiol* **481 (Pt 1)**, 79-95.

-
272. Traub, R. D. & Pedley, T. A. (1981). Virus-induced electrotonic coupling: hypothesis on the mechanism of periodic EEG discharges in Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann.Neurol.* **10**, 405-410.
273. Traub, R. D., Spruston, N., Soltesz, I., Konnerth, A., Whittington, M. A., & Jefferys, G. R. (1998). Gamma-frequency oscillations: a neuronal population phenomenon, regulated by synaptic and intrinsic cellular processes, and inducing synaptic plasticity. *Prog.Neurobiol.* **55**, 563-575.
274. Traub, R. D., Whittington, M. A., Buhl, E. H., Jefferys, J. G., & Faulkner, H. J. (1999). On the mechanism of the gamma --> beta frequency shift in neuronal oscillations induced in rat hippocampal slices by tetanic stimulation. *J Neurosci.* **19**, 1088-1105.
275. Traub, R. D., Whittington, M. A., Colling, S. B., Buzsaki, G., & Jefferys, J. G. (1996). Analysis of gamma rhythms in the rat hippocampus in vitro and in vivo. *J.Physiol* **493 (Pt 2)**, 471-484.
276. Traub, R. D., Wong, R. K., Miles, R., & Michelson, H. (1991). A model of a CA3 hippocampal pyramidal neuron incorporating voltage-clamp data on intrinsic conductances. *J Neurophysiol.* **66**, 635-650.
277. Tsiola, A., Hamzei-Sichani, F., Peterlin, Z., & Yuste, R. (2003). Quantitative morphologic classification of layer 5 neurons from mouse primary visual cortex. *J.Comp Neurol.* **461**, 415-428.
278. Tsodyks, M. V., Skaggs, W. E., Sejnowski, T. J., & McNaughton, B. L. (1996). Population dynamics and theta rhythm phase precession of hippocampal place cell firing: a spiking neuron model. *Hippocampus* **6**, 271-280.
279. Turski, W. A., Cavalheiro, E. A., Schwarz, M., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z., & Turski, L. (1983). Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav.Brain Res.* **9**, 315-335.
280. Ulanovsky, N. & Moss, C. F. (2007). Hippocampal cellular and network activity in freely moving echolocating bats. *Nat.Neurosci.* **10**, 224-233.
281. Urban, N. N., Henze, D. A., & Barrionuevo, G. (2001). Revisiting the role of the hippocampal mossy fiber synapse. *Hippocampus* **11**, 408-417.
282. Van Essen, D. C., Anderson, C. H., & Felleman, D. J. (1992). Information processing in the primate visual system: an integrated systems perspective. *Science* **255**, 419-423.

283. Van Essen, D. C. & Gallant, J. L. (1994). Neural mechanisms of form and motion processing in the primate visual system. *Neuron* **13**, 1-10.
284. Varela, F., Lachaux, J. P., Rodriguez, E., & Martinerie, J. (2001). The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nat.Rev.Neurosci.* **2**, 229-239.
285. Vida, I. & Frotscher, M. (2000). A hippocampal interneuron associated with the mossy fiber system. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **97**, 1275-1280.
286. Vingerhoets, G. (2006). Cognitive effects of seizures. *Seizure.* **15**, 221-226.
287. Vinogradova, O. S. (2001). Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. *Hippocampus* **11**, 578-598.
288. Vivar, C. & Gutierrez, R. (2005). Blockade of the membranal GABA transporter potentiates GABAergic responses evoked in pyramidal cells by mossy fiber activation after seizures. *Hippocampus* **15**, 281-284.
289. Vogt, K. E. & Nicoll, R. A. (1999). Glutamate and gamma-aminobutyric acid mediate a heterosynaptic depression at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **96**, 1118-1122.
290. von Stein, A., Chiang, C., & Konig, P. (2000). Top-down processing mediated by interareal synchronization. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **97**, 14748-14753.
291. Walker, M. C., Ruiz, A., & Kullmann, D. M. (2001). Monosynaptic GABAergic signaling from dentate to CA3 with a pharmacological and physiological profile typical of mossy fiber synapses. *Neuron* **29**, 703-715.
292. Wang, X. J. & Buzsaki, G. (1996). Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *J.Neurosci.* **16**, 6402-6413.
293. Watts, D. J. & Strogatz, S. H. (1998). Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature* **393**, 440-442.
294. Weisskopf, M. G. & Nicoll, R. A. (1995). Presynaptic changes during mossy fibre LTP revealed by NMDA receptor-mediated synaptic responses. *Nature* **376**, 256-259.

295. Whittington, M. A. & Traub, R. D. (2003). Interneuron diversity series: inhibitory interneurons and network oscillations in vitro. *Trends Neurosci.* **26**, 676-682.
296. Whittington, M. A., Traub, R. D., Faulkner, H. J., Jefferys, J. G., & Chettiar, K. (1998). Morphine disrupts long-range synchrony of gamma oscillations in hippocampal slices. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **95**, 5807-5811.
297. Whittington, M. A., Traub, R. D., & Jefferys, J. G. (1995). Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation. *Nature* **373**, 612-615.
298. Whittington, M. A., Traub, R. D., Kopell, N., Ermentrout, B., & Buhl, E. H. (2000). Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. *Int.J.Psychophysiol.* **38**, 315-336.
299. Willoughby, J. O., Fitzgibbon, S. P., Pope, K. J., Mackenzie, L., Medvedev, A. V., Clark, C. R., Davey, M. P., & Wilcox, R. A. (2003). Persistent abnormality detected in the non-ictal electroencephalogram in primary generalised epilepsy. *J Neurol.Neurosurg.Psychiatry* **74**, 51-55.
300. Wilson, M. A. & McNaughton, B. L. (1993). Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science* **261**, 1055-1058.
301. Wood, E. R., Dudchenko, P. A., & Eichenbaum, H. (1999). The global record of memory in hippocampal neuronal activity. *Nature* **397**, 613-616.
302. Yordanova, J., Kolev, V., & Demiralp, T. (1997). The phase-locking of auditory gamma band responses in humans is sensitive to task processing. *Neuroreport* **8**, 3999-4004.
303. Zeman, A. Z., Boniface, S. J., & Hodges, J. R. (1998). Transient epileptic amnesia: a description of the clinical and neuropsychological features in 10 cases and a review of the literature. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* **64**, 435-443.
304. Zhang, L. I., Tao, H. W., Holt, C. E., Harris, W. A., & Poo, M. (1998). A critical window for cooperation and competition among developing retinotectal synapses. *Nature* **395**, 37-44.

ABREVIATURAS

AMPA	ácido α -amino-3-OH-5-metiloxazolato-4-propionico
AMPAR	receptor ionotrópico activado por AMPA (glutamatérgico)
APV	ácido DL-2-amino-5-fosfonopentanoico
CA3-CA1	cuerno de Ammon, áreas 1-3
DCG-IV	(2S,1'R,2'R,3'R)-2-(2,3-dicarboxiciclopropil) glicina
EPSC, EPSP	corriente/potencial postsináptica excitadora
FM	fibras musgosas
GABA	ácido γ -aminobutírico
GABA _{A,B,C} R	receptor activado por GABA (tipo A, B, C)
GAD	descarboxilasa del ácido glutámico
GAT	transportador membranar de GABA
GD	giro dentado
Glu	glutamato
iGluR	receptor ionotrópico a glutamato
i.p.	intraperitoneal
IPSC, IPSP	corriente/potencial postsináptico inhibitor
L-AP4	ácido 2-amino-4-fosfonobutírico
LCRA	líquido cefalorraquídeo artificial
mGluR	receptor metabotrópico a glutamato
NBQX	6-nitro-7-sulfamoilbenzo[f]quinoxaline -2,3-dione
NMDA	N-metil-d-aspartato
NMDAR	receptor ionotrópico activado por NMDA (glutamatérgico)
PTZ	pentilenetetrazol
PIR	pirenzepina
SL	<i>stratum lucidum</i>
TTX	tetrodotoxina