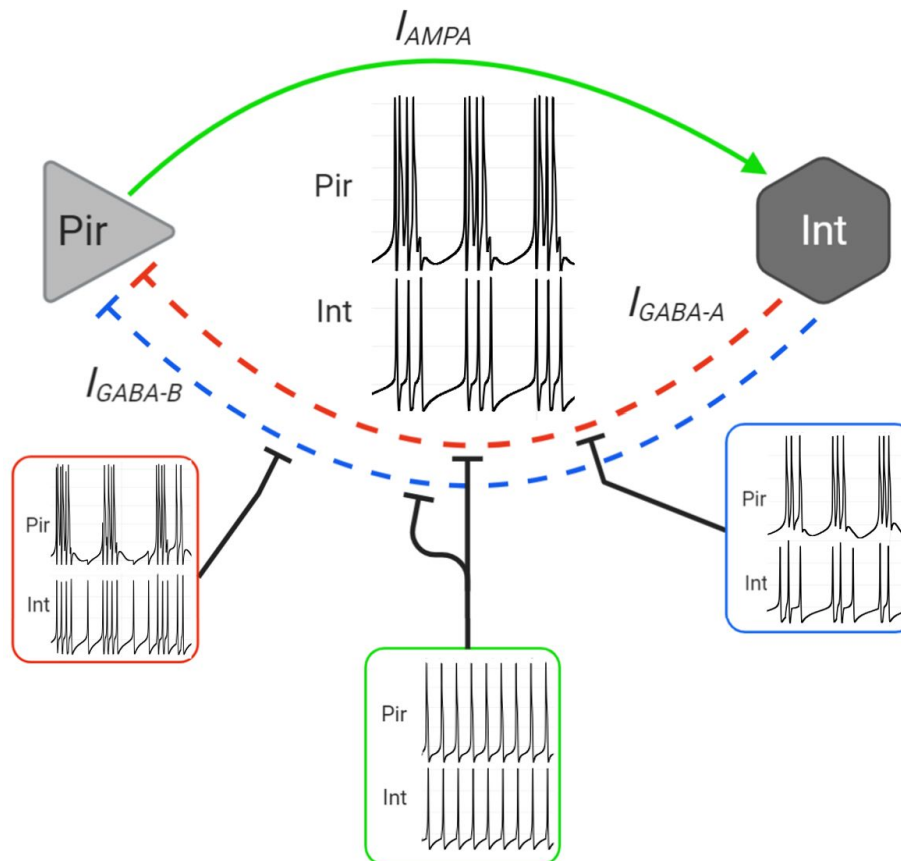


Estudio del papel de la corriente sináptica GABA_B en la modulación de patrones de disparo generadores de oscilaciones tipo onda-y-espiga en un modelo de microcircuito hipocampal

Campos Pérez, Andrea F., Mejía Ortiz, Regina A., & Rico Becerra, Allan I.



Modulación sináptica mediada por las corrientes GABA en el microcircuito hipocámpico.

Evaluación de la actividad neuronal en la presencia y ausencia de las corrientes de GABA en un modelo de neurona piramidal (Pir) y una interneurona (Int) interconectadas a través de las corrientes sinápticas I_{AMPA} (verde), I_{GABA-A} (rojo), I_{GABA-B} (azul). En la figura central se observa un patrón de actividad tipo burst irregular y aperiódico en la Pir, sincrónico con la actividad de la Int, en presencia de todas las corrientes sinápticas en interacción, lo cual representa el comportamiento típico del microcircuito. Al inhibir únicamente la entrada de I_{GABA-A} (recuadro azul), se observan patrones de actividad tipo burst regulares y periódicos, igualmente en sincronía con Int, lo cual se describe como actividad generadora de oscilaciones onda-y-espiga características de las crisis de ausencia. La inhibición individual de I_{GABA-B} (recuadro rojo) genera actividad similar al comportamiento típico observado en la figura central. Al inhibir ambas corrientes de GABA e inactivar la corriente de Ca^{2+} tipo T -al aumentar $I_{ap}(Pir)$ - (recuadro verde), se observa un cambio de actividad hacia tipo tónico, en ambas neuronas. Estos resultados se abordan en la discusión del trabajo.

Participaciones	2
Introducción	3
Método	4
Corrientes intrínsecas de la neurona piramidal	5
Corrientes intrínsecas de la interneurona	8
Corrientes sinápticas AMPA, GABA _A y GABA _B	9
Liberación presináptica del neurotransmisor	10
Interacción sináptica entre las neuronas	11
Resultados	12
Discusión	15
Futuras direcciones	18
Material Suplementario	19
Papel de los canales de Calcio tipo T en la actividad de la neurona piramidal	19
Corrientes sinápticas GABA _A , GABA _B y AMPA correspondientes a los experimentos principales (Fig. 2, 3 y 4)	20
Referencias	22

Participaciones

Descripción del resumen gráfico de resultados

Todos lo redactamos y discutimos en conjunto.

Introducción

Todos lo redactamos y discutimos en conjunto.

Método

- ❑ Corrientes intrínsecas de la neurona piramidal.
Allan R.
- ❑ Corrientes intrínsecas de la interneurona.
Regina M.
- ❑ Corrientes, liberación e interacción sinápticas.
Andrea C.
- ❑ Script del modelo
Todos lo programamos y discutimos en conjunto

Resultados

- ❑ Figura 2. Actividad neuronal en presencia y ausencia de las corrientes sinápticas mediadas por receptores GABA y diferentes corrientes aplicadas.
Allan R.
- ❑ Figura 3. Actividad neuronal al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores GABA_A en presencia de una conductancia de GABA_B al 0%.
Andrea C.
- ❑ Figura 4. Actividad neuronal al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores GABA_A en presencia de una conductancia de GABA_B al 100%.
Regina M.

Discusión

Todos lo redactamos y discutimos en conjunto.

Futuras direcciones

Todos lo redactamos y discutimos en conjunto.

Material Suplementario

- ❑ Figura S1. Andrea C. y Allan R.
- ❑ Figura S2. Allan R.
- ❑ Figura S3. Andrea C.
- ❑ Figura S4. Regina M.

El diagrama de la Figura 1 y del Resumen gráfico de los resultados fueron realizados por Regina M.

Las simulaciones experimentales fueron realizadas y discutidas en conjunto.

Introducción

La epilepsia es la enfermedad más común de las afecciones cerebrales graves, su manifestación clínica principal son las crisis convulsivas motrices y de ausencia (Pereno, 2010). En registros de electroencefalograma (EEG) de múltiples tipos de crisis convulsivas en humanos se muestran patrones generalizados de onda-y-espiga (SW, *spike-and-wave*), así como en modelos animales de convulsiones de ausencia. Estudios previos han mostrado que estos patrones SW pueden tener un origen en circuitos tálamo-corticales (Prevett et al., 1995), sin embargo, estudios recientes sugieren, mediante registros electrofisiológicos de modelos murinos de convulsiones de ausencia tipo SW, que durante la crisis convulsiva existe actividad sincrónica entre el circuito tálamo-cortical y el hipocampo (Arcaro et al., 2016).

Empleando modelos animales de convulsiones de ausencia, se dilucidó el mecanismo neuronal subyacente a la generación de los patrones SW. Se reportó que las células piramidales corticales disparan descargas tipo burst en fase generando el componente de espiga (*“spike”*), mientras que el componente de onda (*“wave”*) surge por el silencio sincrónico de todos los tipos celulares (Avoli et al, 1983; Buzsáki et al., 1990; Inoue et al., 1993). Por otro lado, por medio de estudios en tejido de pacientes se identificó que la aberración en los mecanismos de regulación del potasio (K^+) extracelular precede patrones de actividad caracterizados por disparos tónicos y burst lentos (correspondientes a las fases SW que se observan en EEG) sugiriendo que la regulación del K^+ es un factor detonante de esta actividad epileptiforme (Filatov, G. et al. 2011).

Debido al mecanismo neuronal y al rol propuesto del K^+ en la generación de los patrones SW, se comenzó a estudiar el papel de receptores que tuvieran relación con la regulación de sus corrientes. Con respecto a esto, una serie de resultados farmacológicos sugiere que los receptores de $GABA_B$ juegan un papel importante en la generación de las descargas tipo SW al mediar las respuestas lentas de las corrientes de K^+ (Hosford et al., 1992). Sato et al. (1990) demostraron que los agonistas de $GABA_A$ y $GABA_B$, como Progabida, pueden reducir la actividad convulsivante en neuronas hipocampales, de corteza y de amígdala; sin embargo, por medio del uso de antagonistas de $GABA_A$ se observó que el rol de $GABA_B$ en la convulsión no era tan claro. Posteriormente, estudios en un modelo SW de rata demostraron que los agonistas de los receptores $GABA_B$ exacerban las convulsiones mientras que sus antagonistas las suprimen (Hosford et al., 1992; Smith & Fisher, 1996).

Estudios enfocados en el tálamo sugieren que se pueden generar oscilaciones lentas características de SW al bloquear receptores $GABA_A$, y estas oscilaciones pueden suprimirse por antagonistas del receptor $GABA_B$ (von Krosigk et al., 1993). Empero, pese a que se ha sugerido un papel importante del hipocampo en el origen de las convulsiones tipo SW dentro del circuito cortico-talámico, no existen datos farmacológicos sobre $GABA_B$ en circuitos hipocampales con respecto a estas crisis convulsivas.

Estos experimentos farmacológicos se han replicado mediante modelos computacionales (Destexhe & Sejnowski, 1995; Destexhe, 1998a). En el estudio de Destexhe (1998a), se modeló una red con distintos tipos de neuronas de un circuito cortico-talámico con el objetivo de caracterizar a fondo el papel de GABA_B en las oscilaciones SW. Encontró que debido a las propiedades complejas de activación de las respuestas mediadas por los receptores metabotrópicos GABA_B, los potenciales de campo locales (LFP) simulados pueden mostrar oscilaciones tipo SW si las neuronas corticales piramidales e interneuronas generan descargas prolongadas en sincronía, donde el componente de “espiga” corresponde al disparo sincrónico periódico de la red y el componente de la “onda” corresponde al silencio generado por las corrientes de K⁺ lentas mediadas por GABA_B.

Tomando en cuenta el vacío en la literatura sobre el papel de GABA_B en el hipocampo y su relación con las crisis SW, el presente estudio tiene como objetivo identificar el papel del receptor metabotrópico GABA_B en la generación de patrones de disparo de crisis convulsivas tipo SW, por medio de un modelo computacional de un microcircuito hipocampal compuesto por una neurona piramidal excitatoria y una interneurona inhibitoria.

Por medio de este modelo, se espera observar que la presencia de la corriente mediada por los receptores GABA_B sin la corriente de GABA_A, genere disparos tipo burst periódicos en la neurona piramidal, en sincronía con disparos rápidos de la interneurona, lo cual se ha propuesto como un mecanismo subyacente de los patrones SW en el circuito cortico-talámico (Destexhe, 1998a). Igualmente, se espera que al suprimir únicamente la corriente mediada por el receptor GABA_B, la neurona piramidal no presente disparos tipo burst periódicos, evitando la crisis convulsiva de tipo SW. Finalmente, se espera observar que al quitar ambas corrientes sinápticas de GABA y al aplicar corrientes despolarizantes, las neuronas piramidales presenten un tipo de disparo tónico debido a la falta de activación de la corriente de Ca²⁺ tipo T.

Método

Este modelo simula la dinámica de la interacción sináptica entre una neurona piramidal y una interneurona de la corteza hipocampal. Todas las ecuaciones usadas en este modelo se basan en las propiedades biofísicas de los mecanismos moleculares subyacentes a las corrientes intrínsecas neuronales, a las corrientes sinápticas y a la interacción dinámica entre ambos tipos neuronales. Además, este modelo supone un solo compartimiento neuronal o “single compartment” donde todas las membranas tienen el mismo comportamiento (sin importar si es soma, dendritas o axón), ya que, para los fines de este estudio, no es necesaria la especificidad por compartimiento. El método de modelado de las corrientes intrínsecas y sinápticas se describe a continuación.

Corrientes intrínsecas de la neurona piramidal

Con el objetivo de construir el modelo de la neurona piramidal hipocampal, se emplearon corrientes del estudio de McCormick & Huguenard (1992), incorporando una corriente rápida y transiente de Na^+ (I_{Na}), una corriente de Na^+ persistente activada por despolarización (I_{Nap}), una corriente de Ca^{2+} de bajo umbral (I_{T}), una de Ca^{2+} de umbral alto (I_{L}), una corriente de K^+ activada por Ca^{2+} (I_{C}), una transiente de K^+ activada por despolarización (I_{A}), una inactivadora lenta de K^+ activada por despolarización (I_{K2}), corrientes de fuga de K^+ (I_{KLeak}) y Na^+ (I_{NaLeak}) y una corriente de cationes activada por hiperpolarización (I_{H}).

Las corrientes de Na^+ se agregaron con el objetivo de determinar la actividad despolarizante principal de la neurona piramidal, mientras que las corrientes I_{A} , I_{K2} , I_{L} e I_{C} presentan mayor relevancia en la repolarización neuronal y la resistencia a la despolarización. Las corrientes I_{A} e I_{K2} influyen en los potenciales dependientes de Ca^{2+} , la primera modulando los componentes iniciales y la segunda sus componentes finales. Asimismo, la corriente I_{T} , las corrientes de fuga y la corriente catiónica son necesarias para la generación de la actividad tipo burst, resaltando la importancia de I_{H} por ser un marcapasos de la generación de esta actividad neuronal (McCormick & Huguenard, 1992).

1) Corriente I_{Na}

La corriente I_{Na} fue descrita con ecuaciones tipo Hodgkin-Huxley:

$$I_{\text{Na}} = \bar{g}_{\text{Na}} (V - E_{\text{Na}}) m^3 h$$

donde \bar{g}_{Na} es la conductancia maximal de Na^+ , V es el potencial de membrana y E_{Na} es el potencial de inversión de Na^+ , m es la variable de activación, que varía de 0 (no activada) a 1 (totalmente activada), mientras que h es la variable de inactivación, que igualmente varía de 0 a 1. En todas las descripciones tipo Hodgkin-Huxley, las variables de activación e inactivación en estado estable fueron descritas:

$$m_{\infty}(h_{\infty}) = \alpha / \alpha + \beta$$

y la constante de tiempo de activación o inactivación τ :

$$\tau = 1 / \alpha + \beta$$

Para la variable de activación m :

$$\alpha = 0.091 \cdot (V + 38) / \{1 - \exp[-(V + 38)/5]\}$$

$$\beta = -0.062 \cdot (V + 38) / \{1 - \exp[-(V + 38)/5]\}$$

Para la variable de inactivación h :

$$\alpha = 0.016 \cdot \exp[(-55 - V)/15]$$

$$\beta = 2.07 / \{ \exp[(17 - V)/21] + 1 \}$$

II) Corriente I_{Nap}

La corriente I_{Nap} fue descrita:

$$I_{Nap} = \bar{g}_{Nap} (V - E_{Na}) \cdot m$$

Su activación dependiente de voltaje fue descrita por la ecuación de Boltzmann:

$$m_{Nap\infty} = 1 / \{ 1 + \exp[(-49 - V)/5] \}$$

Se asumieron las mismas variables de activación que I_{Na} .

III) Corrientes I_L e I_T

Para las corrientes de Ca^{2+} , se empleó la ecuación Goldman-Hodgkin-Katz:

$$I_L(I_T) = P \cdot m^2 \cdot z^2 \cdot \frac{EF^2}{RT} \cdot \frac{[Ca]_i - [Ca]_o \cdot \exp(-zFE/RT)}{1 - \exp(-zFE/RT)}$$

donde P es la permeabilidad máxima, z es 2 para Ca^{2+} , $[Ca]_i$ es 10 nM, $[Ca]_o$ es 2 mM para I_L y 3 mM para I_T . F , R y T tienen su valor común (McCormick & Huguenard, 1992).

Para la variable de activación m :

$$\alpha = 1.6 / \{ 1 + \exp[-0.072(V - 5)] \}$$

$$\beta = 0.02 \cdot (V - 1.31) / \{ \exp[(V - 1.31)/5.36] - 1 \}$$

Igualmente, se calcularon las concentraciones de Ca^{2+} , simulando una profundidad de 100 nm bajo una superficie de membrana de 29,000 μm^2 , empleando un modelo de difusión de Traub (1991), el cambio de $[Ca]_i$ se describe:

$$d[Ca^{2+}]/dt = \beta \cdot [Ca^{2+}]$$

La concentración en el tiempo t se calculó:

$$[Ca^{2+}]_t = [Ca^{2+}]_{t-1} + \Delta t \cdot \{[-(5.18 \cdot 10^{-3}) \cdot (IT \text{ o } IL)] / (area \cdot depth) - \beta \cdot [Ca^{2+}]_{t-1}\}$$

IV) Corriente I_C

Para la corriente de K^+ activada por Ca^{2+} se empleó una ecuación de Yamada et al. (1989):

$$I_C = \bar{g}_C (V - E_K) \cdot m$$

con

$$\alpha = (2.5 \cdot 10^5) \cdot [Ca^{2+}]_i \cdot \exp(V/24)$$

$$\beta = 0.1 \cdot \exp(V/24)$$

De acuerdo con McCormick & Huguenard (1992), las concentraciones de Ca^{2+} intracelular se manejaron igual que en la corriente I_L .

V) Corriente I_A

Activación de la corriente transiente de K^+ :

$$m_\infty = 1 / \{1 + \exp[-(V + 60)/8.5]\}$$

$$\tau = 0.37 + 1 / \{\exp[(V + 35.82)/19.697] + \exp[(V + 79.69)/-12.7]\}$$

Inactivación de la corriente:

$$h_\infty = 1 / \{1 + \exp[(V + 78)/6]\}$$

- Con $V < -63$

$$\tau = 1 / \{\exp[(V + 46.05)/5] + \exp[(V + 238.4)/-37.45]\}$$

- $V \geq -63$

$$\tau = 19$$

VI) Corriente I_{K2}

Activación de la corriente lenta de K^+ :

$$m_\infty = 1 / \{1 + \exp[(V + 43)/-17]\}$$

$$\tau = 1 / \{\exp[(V - 81)/25.6] + \exp[(V + 132)/-18]\} + 9.9$$

Inactivación tipo A:

$$h_\infty = 1 / \{1 + \exp[(V + 58)/10.6]\}$$

$$\tau = 1 / \{\exp[(V - 1.329)/20] + \exp[(V + 130)/-7.1]\} + 120$$

Inactivación tipo B:

$$h_{\infty} = 1/\{1 + \exp[(V + 58)/10.6]\}$$

- Con $V < -70$

$$\tau = 1/\{\exp[(V - 1.329)/20] + \exp[(V + 130)/-7.1]\} + 120$$

- Con $V \geq -70$

$$\tau = 8.9$$

VII) Corrientes I_{KLeak} y I_{NaLeak}

Las corrientes de fuga fueron descritas:

$$I_{NaLeak} = \bar{g}_{NaLeak} (V - E_{Na})$$

$$I_{KLeak} = \bar{g}_{KLeak} (V - E_K)$$

VIII) Corriente I_H

Activación de la corriente catiónica:

$$m_{\infty} = 1/\{1 + \exp[-(V + 36)/20]\}$$

$$\tau = 0.37 + 1/\{\exp[(V + 35.82)/19.69] + \exp[(V + 79.69)/-12.7]\}$$

Inactivación:

$$h_{\infty} = 1/\{1 + \exp[(V + 78)/6]\}$$

- Con $V < -73$

$$\tau = 1/\{\exp[(V + 46.05)/5] + \exp[(V + 238.4)/-37.45]\}$$

- Con $V \geq -73$

$$\tau = 60$$

Las conductancias maximales empleadas para cada corriente fueron: $gNa^+ = 12.0 \mu S$, $gNap = 7 \times 10^{-3} \mu S$, $gNa_{Leak} = 2.65 \times 10^{-3} \mu S$, $gA = 20 \times 10^{-3} \mu S$, $gA_2 = 15 \times 10^{-3} \mu S$, $gK_{Leak} = 7 \times 10^{-3} \mu S$, $gK_{2A} = 38 \times 10^{-3} \mu S$, $gK_{2B} = 26 \times 10^{-3} \mu S$, $gC = 1.0 \mu S$ y $gL = 0.8 \mu S$.

Corrientes intrínsecas de la interneurona

Las interneuronas hipocampales principalmente proveen de sinapsis gabaérgicas inhibitorias a las neuronas piramidales por medio de la activación de los receptores GABA_A o GABA_B. Esta

inhibición juega un papel importante en la regulación de la excitabilidad no solo a nivel celular si no a nivel de red, además de sincronizar la actividad de circuitos facilitando la actividad oscilatoria (Hu, H., Gan, J., & Jonas, P., 2014).

Con el objetivo de construir un modelo de una interneurona hipocampal “fast spiking” o de disparo en rápido, se emplearon las mismas corrientes que en la neurona piramidal, anteriormente mencionadas, ajustando el valor de las conductancias maximales de las corrientes para simular la actividad observada en registros electrofisiológicos (Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B., 2016). ($gNa^+ = 4.0 \mu S$, $gNap = 0.0 \mu S$, $gNa_{Leak} = 2.65 \times 10^{-3} \mu S$, $gA = 120 \times 10^{-3} \mu S$, $gA2 = 120 \times 10^{-3} \mu S$, $gK_{Leak} = 5 \times 10^{-3} \mu S$, $gK_{2A} = 10^{-3} \mu S$, $gK_{2B} = 10^{-3} \mu S$, $gC = 1.0 \mu S$ y $gL = 0.1 \mu S$).

Se logró ajustar el modelo disminuyendo las conductancias maximales de Ca^{2+} tipo T y L para eliminar la actividad tipo burst, a la vez que se aumentan las conductancias maximales de la corriente I_A para una repolarización más rápida, que en conjunto con la dinámica de las corrientes de Na^+ , generan la dinámica “fast spiking” (Hu, H., Gan, J., & Jonas, P., 2014).

Corrientes sinápticas AMPA, GABA_A y GABA_B

Las corrientes postsinápticas excitatorias mediadas por el receptor de glutamato AMPA y las inhibitorias mediadas por receptores gabaérgicos GABA_A y GABA_B se simularon con base en modelos que describen su cinética (Destexhe et al., 1998b; Destexhe et al., 1994a). El mecanismo de este modelo de corrientes sinápticas se basa en que cuando la célula presináptica genera un potencial de acción, se simula la liberación de un pulso de neurotransmisor en el espacio sináptico y la unión de este transmisor a los receptores se representa mediante una cinética simple de apertura/cierre lo que lleva a un incremento en la corriente de la neurona postsináptica. La cinética de las corrientes sinápticas mediadas por receptores iónicos AMPA y GABA_A están descritas por las siguientes ecuaciones (Destexhe, 1998a):

$$I_{syn} = \bar{g}_{syn} m (V - E_{syn})$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha [T] (1 - m) - \beta m$$

Donde I_{syn} es la corriente postsináptica, \bar{g}_{syn} es la conductancia maximal de la corriente, m es la fracción de receptores abiertos cuya dinámica está descrita por la ecuación diferencial $\frac{dm}{dt}$, V es el potencial de la membrana postsináptica, E_{syn} es el potencial de inversión de la corriente, $[T]$ es la concentración de transmisor en el espacio sináptico (su mecanismo se describe en la siguiente sección), y α y β son las constantes de apertura y cierre de los receptores dependientes de la unión de T (transmisor). Los parámetros de las ecuaciones son los siguientes: $E_{syn} = 0 mV$, $\alpha = 0.94 M^{-1}s^{-1}$, $\beta = 180 s^{-1}$ y $\bar{g}_{syn} = 6.5 nS$ (constante en todos los experimentos) para los

receptores AMPA ; y $E_{syn} = -80 \text{ mV}$, $\alpha = 20 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $\beta = 160 \text{ s}^{-1}$ para los receptores GABA_A (su conductancia maximal varió en los experimentos). Estos parámetros se obtuvieron de ajustar el modelo de Destexhe (1998a) mediante simulaciones basadas en literatura previa y resultados experimentales (Destexhe et al., 1998b).

El modelado de la inhibición lenta mediada por los receptores metabotrópicos GABA_B requirió ecuaciones más complejas para capturar las propiedades no-lineales de la corriente sináptica (Destexhe & Sejnowski, 1995). La corriente sináptica de GABA_B tiene una dinámica compleja ya que depende de la activación de los receptores por la unión del GABA, luego de la catalización de proteínas G intracelulares por el receptor activado y finalmente, la apertura de canales de K^+ debido a la unión de las proteínas G activadas. Este proceso se describe en las siguientes ecuaciones:

$$I_{\text{GABA}_B} = \bar{g}_{\text{GABA}_B} \frac{s^n}{s^n + K_D} (V - E_K)$$

$$\frac{dr}{dt} = K_1 [T] (1 - r) - K_2 r$$

$$\frac{ds}{dt} = K_3 r - K_4 s$$

Donde $[T]$ es la concentración de GABA en el espacio sináptico (ver la siguiente sección), r es la fracción de receptores GABA_B en una forma activada, s es la concentración de proteína G activada, \bar{g}_{GABA_B} es la conductancia maximal postsináptica de los canales K^+ (su valor varió en los experimentos), K_D es la constante de disociación de la unión de proteínas G con canales K^+ , V es el potencial de membrana postsináptico, y E_K es el potencial de inversión del K^+ . El ajuste de este modelo mediante simulaciones experimentales de la corriente de GABA_B llevaron a los siguientes parámetros: $K_D = 100$, $K_1 = 9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $K_2 = 1.2 \text{ s}^{-1}$, $K_3 = 180 \text{ s}^{-1}$, y $K_4 = 34 \text{ s}^{-1}$, con $n = 4$ sitios de unión.

Liberación presináptica del neurotransmisor

El mecanismo de liberación del neurotransmisor inicia cuando llega un potencial de acción a la terminal presináptica que permite la entrada de Ca^{2+} a través de una corriente de Ca^{2+} de alto umbral, el calcio se une a proteínas SNARE que promueven la liberación al unirse a las vesículas presinápticas disponibles que contienen al transmisor, finalmente, la unión entre las vesículas acopladas a calcio y la membrana de la terminal conduce a la liberación de n moléculas de transmisor en la hendidura sináptica (Kandel et al., 2013).

Existen modelos complejos que simulan cada uno de los procesos subyacentes de la liberación del neurotransmisor, sin embargo, estos son poco eficientes computacionalmente cuando se trata de redes neuronales, además, los mecanismos pueden representarse mediante modelos cinéticos simplificados. Dicha simplificación propone el uso de una función continua que transforma el voltaje presináptico en concentración de transmisor (Destexhe et al., 1994b; Destexhe et al., 1998b). Esta aproximación asume que todas las reacciones que intervienen en el proceso de liberación son rápidas y pueden considerarse en un estado estable. La relación entre el voltaje presináptico y la concentración $[T]$ de transmisor liberado al espacio sináptico está descrita por la siguiente ecuación:

$$[T](V_{pre}) = \frac{T_{max}}{1 + \exp[-(V_{pre} - V_p)/K_p]}$$

Donde $T_{max} = 0.5 \text{ mM}$ es la concentración maximal de transmisor en el espacio sináptico, V_{pre} es el voltaje presináptico, $K_p = 5 \text{ mV}$ da la inclinación y $V_p = 2 \text{ mV}$ establece el valor en el que la función está medio activada.

Esta ecuación provee una versión simple de la transformación entre el voltaje presináptico y la concentración de transmisor liberado. De esta manera, en conjunto con los modelos de corrientes postsinápticas (ver sección anterior), se representa la dinámica de interacción sináptica entre la neurona piramidal e interneurona de la corteza hipocampal.

Interacción sináptica entre las neuronas

Como antes se mencionó, en este trabajo se modeló la dinámica de interacción entre una neurona piramidal y una interneurona hipocampales a través de corrientes intrínsecas y corrientes sinápticas específicas a cada tipo neuronal, descritas por la siguiente ecuación de membrana:

$$C_m V_i = -g_L (V_i - E_L) - \sum_j I_{int}^i - \sum_k I_{syn}^{ki}$$

Donde V_i es el potencial de membrana de la neurona postsináptica i , $C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ es la capacitancia de la membrana, g_L es la conductancia de la corriente de fuga, y E_L es el potencial de inversión de la corriente de fuga. Las corrientes intrínsecas y sinápticas están representadas por I_{int}^i y I_{syn}^{ki} , respectivamente.

Las corrientes sinápticas I_{syn}^{ki} , de la célula presináptica k a la célula postsináptica i , fueron simuladas activando un pulso corto de neurotransmisor cuando la neurona k genera un potencial de acción (como se describe en la sección anterior). Basados en las propiedades electrofisiológicas de las neuronas piramidales y las interneuronas en el hipocampo (Cutsuridis et

al., 2019), la conexión excitatoria entre la neurona presináptica piramidal y la interneurona postsináptica (Pir → Int) está mediada por la corriente sináptica de los receptores AMPA (Figura 1, línea en negrita). Por otro lado, la conexión inhibitoria entre la interneurona presináptica y la neurona piramidal postsináptica (Int → Pir) está mediada por una mezcla de los receptores GABA_A y GABA_B (Figura 1, línea punteada).

Como se mencionó en secciones anteriores, el patrón de actividad de la neurona piramidal es de tipo “burst”, mientras que la interneurona muestra un disparo de tipo “fast spiking”, en la Figura 1 se muestra cómo es la actividad típica de ambos tipos neuronales bajo el régimen de interacción sináptica del modelo.

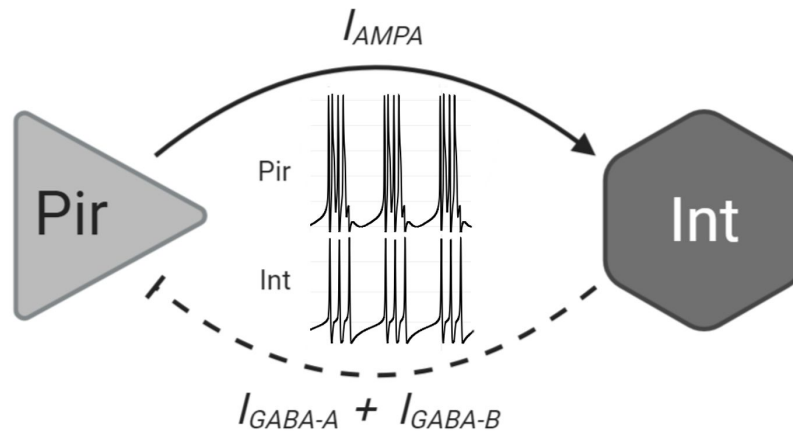


Figura 1. Diagrama del modelo que representa la interacción sináptica entre la neurona piramidal (Pir) y la interneurona (Int). Las flechas representan las corrientes sinápticas entre ambos tipos neuronales. En la corriente excitatoria I_{AMPA} (línea en negrita) Pir es la neurona presináptica e Int es la neurona postsináptica. En la corriente inhibitoria $I_{GABA-A} + I_{GABA-B}$ (línea punteada) Int representa la presinapsis y Pir la postsinapsis. El patrón de actividad de cada neurona se muestra en el centro de la figura. Las corrientes aplicadas (I_{ap}) en esta simulación fueron: $I_{ap}(Pir) = 0.28$ nA; $I_{ap}(Int) = 0.20$ nA. Las conductancias maximales fueron: $\bar{g}_{GABA-A} = 500$ pS; y $\bar{g}_{GABA-B} = 1,100$ pS.

La solución numérica de las ecuaciones diferenciales que representan la cinética de las distintas corrientes se consiguió por el método de integración de Euler con un paso de tiempo de 0.01 ms. El programa de simulación fue escrito en Julia 1.3.1.

Resultados

Primeramente, se modeló la actividad de las neuronas en ausencia de las corrientes generadas por GABA_A y GABA_B, contando únicamente con la acción de las corrientes intrínsecas de ambas neuronas y la corriente generada por AMPA, resultando en una serie de disparos tónicos tanto en la interneurona como en la piramidal, como se puede observar en la Figura 2A. Partiendo de un potencial de membrana basal de -90 mV y -65 mV, respectivamente, se inyectó una corriente de $I_{ap}(Pir) = 0.45$ nA y una $I_{ap}(Int) = 0.20$ nA. Las conductancias maximales de las corrientes sinápticas de los receptores de GABA fueron de 0% ($\bar{g}_{GABA-A} = 0$ pS y $\bar{g}_{GABA-B} = 0$ pS).

En contraste con el resultado anterior, la exposición a ambas corrientes sinápticas de GABA al 100%, generó disparos de tipo burst irregulares en la neurona piramidal. Esta actividad se encontró sincronizada con la de la interneurona, la cual presentó disparos rápidos, como se puede observar en la Figura 2B. En este experimento, se empleó un potencial basal de membrana de -90 mV para la interneurona y uno de -65 mV para la piramidal, se inyectó una corriente de $I_{ap}(Pir) = 0.28$ nA y una $I_{ap}(Int) = 0.20$ nA, con conductancias maximales de $\bar{g}_{GABA-A} = 500$ pS y $\bar{g}_{GABA-B} = 1,100$ pS. La evolución temporal de las corrientes sinápticas de ambos experimentos también fueron modeladas (Material Suplementario, Figura S2).

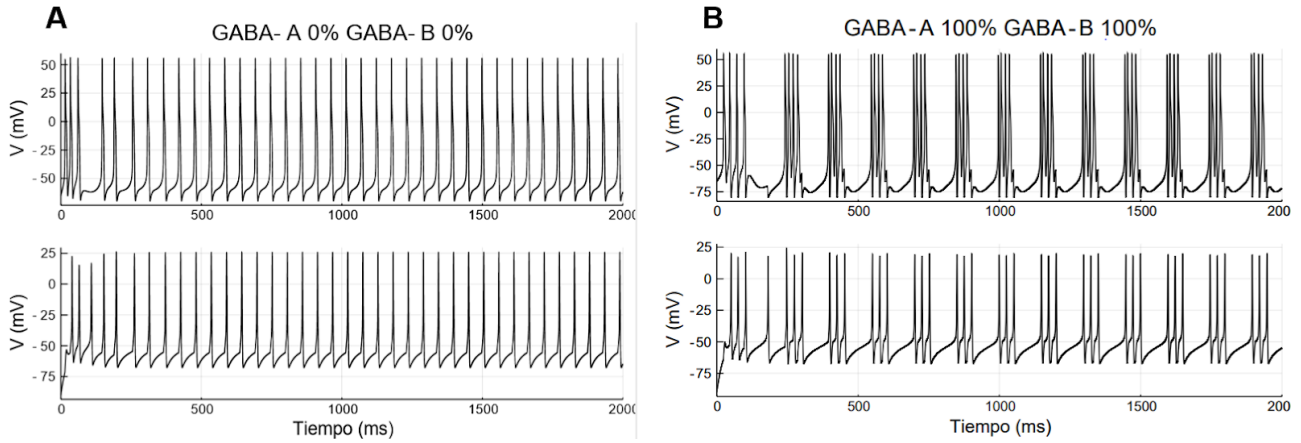


Figura 2. Actividad neuronal en presencia y ausencia de las corrientes sinápticas mediadas por receptores GABA y diferentes corrientes aplicadas. A) Potencial de membrana (V) en función del tiempo de la neurona piramidal (gráfica superior) y de la interneurona (gráfica inferior), en ausencia de corrientes sinápticas mediadas por GABA_A y GABA_B. Los disparos en ambas neuronas son de tipo tónico a lo largo de 2000 ms. B) Observación de los cambios de potencial en ambas neuronas, en un contexto de presencia total de corrientes sinápticas GABA hay generación de disparos tipo burst irregulares en la neurona piramidal y actividad sincrónica de la interneurona.

Posteriormente, se modeló la actividad de las neuronas en ausencia de la corriente sináptica mediada por los receptores GABA_B (conductancia maximal al 0%) a diferentes porcentajes de conductancia de la corriente mediada por el receptor GABA_A con el objetivo de caracterizar el papel de GABA_A en el disparo neuronal. En la Figura 3A, con una conductancia maximal de la corriente de GABA_A al 100% se puede ver que la actividad de la neurona piramidal es de tipo burst irregular y aperiódica, mientras que la interneurona muestra disparos sincrónicos con la actividad de la piramidal. Partiendo de un potencial de membrana de -65 mV en la piramidal y -90 mV en la interneurona, se inyectó una corriente $I_{ap}(Pir) = 0.14$ nA y $I_{ap}(Int) = 0.22$ nA, además las conductancias maximales de las corrientes mediadas por GABA_A y GABA_B fueron $\bar{g}_{GABA-A} = 500$ pS y $\bar{g}_{GABA-B} = 0$ pS.

Al igual que el resultado anterior, en la Figura 3B se observa que la neurona piramidal presenta una actividad de tipo burst irregular y aperiódica, mientras que la interneurona presenta disparos sincrónicos con los tipo burst. La actividad se modeló bajo una conductancia del 50% de la corriente mediada por GABA_A. Partiendo de un potencial de membrana de -65 mV en la

piramidal y -90 en la interneurona, se inyectó una corriente $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.16 \text{ nA}$ y $I_{ap}(\text{Int}) = 0.20 \text{ nA}$, las conductancias maximales de las corrientes mediadas por GABA_A y GABA_B fueron $\bar{g}_{\text{GABA}-A} = 250 \text{ pS}$ y $\bar{g}_{\text{GABA}-B} = 0 \text{ pS}$. La evolución temporal de las corrientes sinápticas de ambos experimentos también fueron modeladas (Material Suplementario, Figura S3).

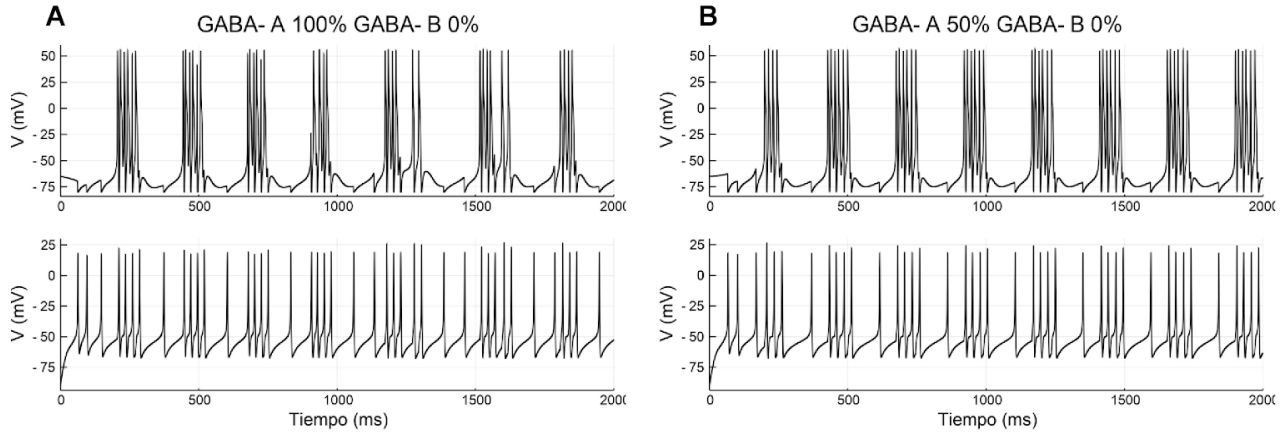


Figura 3. Actividad neuronal al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores GABA_A en presencia de una conductancia de GABA_B al 0%. Se observa el potencial de membrana (V) en función del tiempo (ms) de la neurona piramidal (gráfica superior) y de la interneurona (gráfica inferior). A) En ausencia de la corriente mediada por los receptores GABA_B y un 100% de conductancia de la corriente mediada por GABA_A , la neurona piramidal presenta una actividad tipo burst irregular y aperiódica, mientras que la interneurona muestra sincronía en sus disparos con respecto a los burst. B) En ausencia de la corriente GABA_B y un 50% de conductancia de la corriente mediada por GABA_A , la neurona piramidal presenta actividad de tipo burst irregular en sincronía con los disparos de la interneurona.

Finalmente, se modeló la actividad de las neuronas sin la presencia de la corriente mediada por los receptores GABA_A manteniendo las corrientes intrínsecas, de AMPA y de GABA_B intactas, para evaluar el impacto de la inhibición lenta dada por los receptores GABA_B sobre la actividad de las neuronas. El resultado fue una serie de disparos tipo burst regulares y periódicos en la neurona piramidal sincrónicos con los disparos de la interneurona, como se puede observar en la Figura 4A. Partiendo de un potencial de membrana en reposo de -65mV y -90mV respectivamente, se inyectó una corriente positiva a ambas neuronas $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.28 \text{ nA}$, $I_{ap}(\text{Int}) = 0.19 \text{ nA}$ y las conductancias maximales fueron $\bar{g}_{\text{GABA}-A} = 0 \text{ pS}$ y $\bar{g}_{\text{GABA}-B} = 1,100 \text{ pS}$.

Por último, con el objetivo de evaluar el impacto de la corriente mediada por receptores GABA_A sobre la dinámica generada por la corriente mediada por los receptores GABA_B , se aumentó la conductancia de GABA_A en un 50%, resultando en una disminución de la regularidad de los disparos tipo burst en las neuronas piramidales y su sincronía con los disparos de la interneurona, como se puede observar en la Figura 4B. Partiendo de un potencial de membrana en reposo de -65mV y -90mV respectivamente, se inyectó una corriente positiva a ambas neuronas $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.28 \text{ nA}$, $I_{ap}(\text{Int}) = 0.19 \text{ nA}$, y las conductancias maximales fueron

$\bar{g}_{GABA-A} = 250 \text{ pS}$ y $\bar{g}_{GABA-B} = 1,100 \text{ pS}$. La evolución temporal de las corrientes sinápticas de ambos experimentos también fueron modeladas (Material Suplementario, Figura S4).

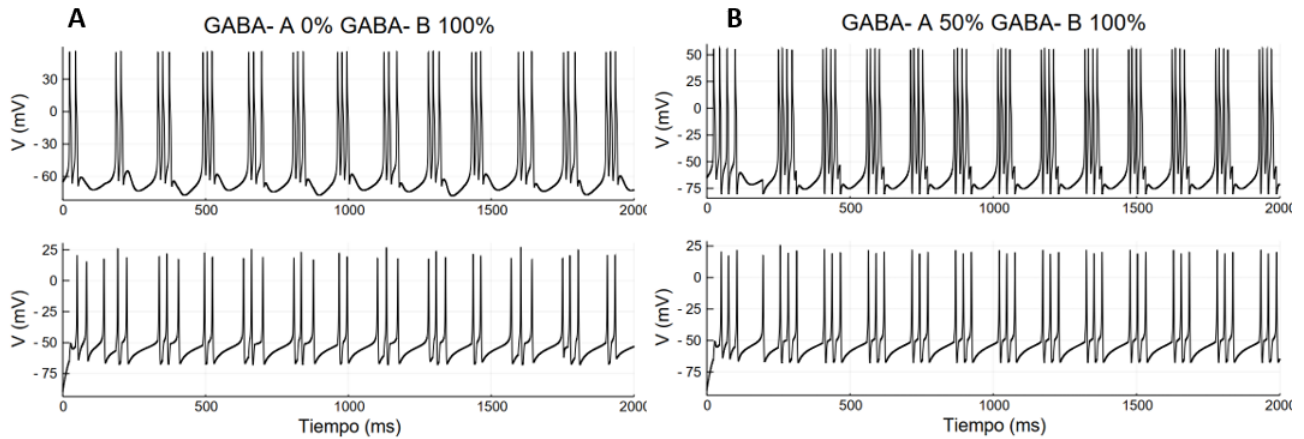


Figura 4. Actividad neuronal al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores $GABA_A$ en presencia de una conductancia de $GABA_B$ al 100%. Se observa el potencial de membrana (V) en el tiempo (ms) de la neurona piramidal (gráfica superior) y de la interneurona (gráfica inferior). A) En ausencia de la corriente mediada por los receptores $GABA_A$, la neurona piramidal presenta una actividad de tipo burst regular y periódica, sincrónica con los disparos de la interneurona. B) Con solo el 50% de la corriente mediada por los receptores $GABA_A$, la neurona piramidal disminuye la regularidad de los disparos tipo burst y pierden su forma; la interneurona muestra disparos sincrónicos con la piramidal.

Discusión

Este estudio describe el papel de la corriente mediada por receptores $GABA_B$ en la actividad neuronal subyacente a crisis convulsivas tipo SW, en un modelo de una neurona piramidal y una interneurona hipocampal interconectadas sinápticamente. Los resultados principales y sus implicaciones biológicas se describen a continuación.

De forma previa a los experimentos, tomando en cuenta que el modelo creado por McCormick y Huguenard (1992) presenta una neurona piramidal con disparos tipo burst derivados de la modulación por parte de las corrientes de K^+ , Ca^{2+} y de fuga; primeramente se modeló el comportamiento neuronal en ausencia de las corrientes sinápticas de GABA, con el objetivo de revelar el tipo de actividad mediada principalmente por corrientes transientes de calcio (Material Suplementario, Figura S1). Estas corrientes son generadas gracias a los canales de Ca^{2+} tipo T, los cuales son activados por bajo voltaje y desencadenan espigas de bajo umbral (LTS, *low-threshold spikes*), que en consiguiente evocan un burst de potenciales de acción mediados por canales rápidos de Na^+ activados por voltaje (Gambardella & Labate, 2014).

Esta actividad de burst se desencadena por las propiedades biofísicas de los canales de Ca^{2+} tipo T, es decir, la activación por bajo voltaje (alrededor de -60 mV), inactivación rápida ($\tau = \sim 15 - 30 \text{ ms}$) completa y a potenciales de alrededor de -20 mV, y desactivación lenta; además,

estos canales responden a los pulsos despolarizantes con múltiples aperturas y cierres (actividad burst), se vuelven silentes y ante ciertos potenciales vuelven al burst (Perez-Reyes, 2003).

En la Figura S1, se puede observar la actividad de burst mediada principalmente por Ca^{2+} tipo T (sin corrientes sinápticas GABA) a diferentes corrientes aplicadas, demostrando la dependencia de estos canales al voltaje de membrana y su capacidad de generar actividad burst. Al exponer a las neuronas a distintos valores de I_{ap} (Pir) de forma descendente, se observa una disminución en la frecuencia de generación de bursts en tanto los valores de voltaje se mantienen en un rango óptimo (-60 mV a -70 mV, aprox.) para la activación de los canales (Material Suplementario, Figura S1A, S1B, S1C). En cambio, al exponerlas a una I_{ap} (Pir) negativa el potencial de membrana se va a valores negativos a los cuales los canales Ca^{2+} tipo T no se activan, impidiendo la generación de actividad tipo burst (Figura S1D).

En el primer experimento, al eliminar las corrientes mediadas por GABA y con la aplicación de una corriente despolarizante de 0.45 nA sobre la neurona piramidal y de 0.25 nA en la interneurona, el modo de disparo burst esperado cambió a tipo tónico (Figura 2A). Este comportamiento de cambio de tipo de disparo tras la inyección de una corriente despolarizante se ha observado con anterioridad (Maccaferri et al., 1993; McCormick, 1992), y se explica porque al aplicar una corriente despolarizante el potencial de membrana de la neurona piramidal se aleja del valor óptimo para la activación de los canales de Ca^{2+} , pasando estos a un estado inactivado, imposibilitando la generación de disparos burst (Perez-Reyes, 2003). Además, se sabe que en circuitos hipocámpales el cambio de un disparo de tipo tónico a burst es modulado por las corrientes gabaérgicas que provee la interneurona (Pavlov et al., 2014). Estas corrientes generan potenciales postsinápticos inhibitorios, que llevan la membrana al potencial de inversión de la corriente de GABA (aproximadamente -67 mV). Tras esta hiperpolarización, la neurona se repolariza, presentando un potencial efectivo para activar a los canales de Ca^{2+} tipo T y por ende evocar LTS, necesarios para desencadenar actividad tipo burst (Suzuki & Rogawski, 1989; Leresche & Lambert, 2018).

Con este resultado, se determinó una actividad no generadora de oscilaciones SW (Destexhe, 1998a), y se observó que el cambio de disparo tipo burst a tónico es modulado por las corrientes sinápticas de GABA en conjunto con la corriente de Ca^{2+} tipo T, y que la interneurona muestra con la piramidal debido a la corriente AMPA que las interconecta.

En contraste con el resultado anterior, la adición total de corrientes sinápticas de GABA_A y GABA_B sobre el sistema, promovió la aparición de disparos tipo burst irregulares y aperiódicos en la piramidal, sincronizados con la actividad de la interneurona (Figura 2B). Para explicar este resultado, primero es necesario saber que la generación de burst periódicos y regulares está mediada por las corrientes lentas de K^+ activadas por proteínas G, que a su vez se activan mediante los receptores GABA_B . Estas corrientes, junto con la corriente mediada por los canales de Ca^{2+} tipo T, son las responsables de la actividad tipo burst sostenida y periódica en las neuronas piramidales en sincronía con interneuronas; esta actividad neuronal es la que subyace al

mecanismo de generación de las descargas tipo SW características de las crisis de ausencia (Destexhe, 1998a; Perez-Reyes, 2003; Tsakiridou et al., 1995).

La dinámica de la corriente mediada por GABA_B es relativamente lenta en comparación a la corriente de GABA_A debido a la diferencia entre sus mecanismos de acción, ya que al ser GABA_A un receptor ionotrópico, permite la entrada directa de iones Cl⁻ a la neurona lo que genera una hiperpolarización rápida, en contraste con el mecanismo metabotrópico de GABA_B, mencionado anteriormente (Kandel et al., 2013). Esta dinámica diferencial de las corrientes sinápticas se puede observar en las Figuras S2B y S4B (Material Suplementario).

Conforme a lo anterior, el resultado de la Figura 2B se puede explicar porque cuando ambas corrientes están al 100%, la inhibición rápida mediada por GABA_A domina a la dinámica de inhibición lenta mediada por la corriente de GABA_B (Figura S2B) y, en consecuencia, se reduce la tendencia a generar bursts periódicos y regulares de la neurona piramidal. La sincronía de la interneurona con los disparos de la piramidal, se debe al efecto mediado por la corriente AMPA en cada disparo. Este efecto se ha observado en modelos computacionales de SW en loops cortico-talámicos (Destexhe, 1998a) y es consistente con el rol de clonazepam, que reduce la tendencia de la red a entrar en comportamientos SW, al actuar como agonista específico de los receptores GABA_A (Huguenard & Prince, 1994; Gibbs et al., 1996).

En el siguiente experimento, se evaluó la relación de la dinámica individual de GABA_A con la actividad neuronal y la capacidad del sistema para generar descargas tipo SW. Cuando la corriente de GABA_A tiene una conductancia al 100%, en ausencia de GABA_B (conductancia al 0%), la piramidal mostró actividad tipo burst irregular y aperiódica en sincronía con los disparos de la interneurona (Figura 3A). Esta dinámica se atribuye a que al activar a GABA_A la neurona piramidal se somete a corrientes hiperpolarizantes rápidas (Figura S3) que no permiten la desinactivación completa de los canales de Ca²⁺ tipo T, lo que evita que el sistema presente bursts regulares y sostenidos. Además, tomando en cuenta que la periodicidad de los bursts es promovida por GABA_B, es lógico pensar que en ausencia de esta corriente, la actividad únicamente regida por GABA_A será aperiódica. Este mismo efecto pudo observarse cuando la corriente de GABA_A se redujo al 50% (Figura 3B) lo que permite sugerir que incluso una corriente reducida de GABA_A es suficiente para evitar la tendencia del sistema a generar burst periódicos, lo cual es consistente con resultados previos (Destexhe, 1998a).

En el último experimento, se evaluó la corriente GABA_B en ausencia de la corriente GABA_A (Figura 4A). Bajo estas condiciones, la neurona piramidal presenta actividad tipo burst periódica y sincrónica con los disparos de la interneurona; esta actividad es característica de los patrones de descarga subyacente a SW y se atribuye a las corrientes inhibitorias mediadas por los receptores GABA_B, este resultado es consistente a lo reportado previamente (Destexhe, 1998a). Cabe mencionar que la depleción de GABA_A no se reporta de manera natural en las neuronas corticales (Kandel et al., 2013), por lo que la condición de esta simulación no es fisiológica pero resalta el papel de GABA_B en la generación de patrones SW.

En cambio, al aumentar en un 50% la corriente $GABA_A$ (Figura 4B) en presencia del 100% de la corriente $GABA_B$, se observa el inicio de una disrupción de la dinámica generada puramente por $GABA_B$ mostrada en la Figura 4A. Esto permite señalar que incluso una corriente de $GABA_A$ reducida es suficiente para alterar la dinámica de disparo tipo burst periódico de la neurona piramidal, llevándola a bursts irregulares y aperiódicos, lo cual es consistente con resultados previos (Destexhe, 1998a). Estos resultados concuerdan con la dinámica observada en las corrientes sinápticas de GABA (Figura S4B) ya que podemos observar que ambas corrientes muestran distintos comportamientos, siendo la corriente de $GABA_B$ lenta y de menor intensidad (pico máximo ~ 1.0 nA) en contraste a la de $GABA_A$ que es rápida e intensa (pico máximo ~ 100 nA); lo que por ende, resulta en que la corriente $GABA_A$ predomine sobre la corriente $GABA_B$ afectando la actividad de disparo tipo SW característica de las crisis convulsivas de ausencia.

En resumen, las corrientes de GABA en conjunto con la corriente mediada por los canales de Ca^{2+} tipo T, modulan la generación de actividad tipo burst en la neurona piramidal de manera diferencial. Primeramente, la corriente de Ca^{2+} modula la capacidad de generar disparos tipo burst, influyendo en su cambio a disparos de tipo tónico. La corriente de $GABA_B$ produce bursts periódicos y regulares, que subyacen a las descargas tipo SW, en sincronía con disparos rápidos de la interneurona; mientras que $GABA_A$ genera bursts aperiódicos e irregulares y es capaz de disruptir la acción de $GABA_B$ en la generación de SW, debido a las propiedades biofísicas de los receptores, a las propiedades de sus mecanismos de acción y a las dinámicas temporales de sus corrientes. Estos resultados concuerdan con la hipótesis planteada al inicio del trabajo.

En conclusión, el presente modelo simuló efectivamente la dinámica de un microcircuito de neuronas hipocampales (piramidal e interneurona) interconectadas sinápticamente, sugiriendo que un loop de excitación-inhibición es capaz de emular los patrones de disparos subyacentes a las crisis epilépticas tipo SW, en consecuencia de la corriente de $GABA_B$ y Ca^{2+} tipo T. Igualmente, esta actividad presenta una alta sensibilidad ante la acción de la corriente $GABA_A$. En conjunto, estas corrientes se encargan de modular la actividad sináptica del microcircuito y su capacidad de generar patrones SW.

Futuras direcciones

La principal limitación de este trabajo es la conformación del modelo por únicamente dos neuronas hipocampales (piramidal e interneurona), que para fines de este estudio fue suficiente para llegar a las conclusiones sobre el mecanismo de disparo subyacente a la generación de SW y su relación con $GABA_B$, sin embargo, las conclusiones no son generalizables sobre un mecanismo común para el sistema hipocampal. Para compensar esto, se propone la creación de un modelo más robusto del circuito sináptico hipocampal. Igualmente, en un futuro se podría implementar un

modelo que incluya el papel del hipocampo en el circuito de retroalimentación corticotalámico antes modelado por Destexhe (1998a), ya que recientes estudios en modelos animales de crisis de ausencia han señalado un papel del hipocampo en este circuito (Arcaro et al., 2016).

En consiguiente, las oscilaciones de tipo SW únicamente pueden estudiarse mediante potenciales de campo locales (LFP) que toman en cuenta la actividad poblacional de las neuronas (Destexhe, 1998a), sin embargo, ya que el fin de este trabajo era estudiar la actividad subyacente a estas oscilaciones, y como el circuito solo está compuesto por dos neuronas, no se modelaron los LFP. Por ello, se propone que se modelen los LFP de la red hipocampal más robusta y del circuito cortico-talámico-hipocampal propuesto, con el fin de observar directamente las oscilaciones tipo SW, a la par de su actividad poblacional subyacente.

Además, en el modelo propuesto del circuito junto con LFP, se podría evaluar la modulación de fármacos agonistas y antagonistas de las corrientes sinápticas de GABA, con el fin de proponer nuevas posibles estrategias farmacológicas para el tratamiento de la epilepsia de tipo de ausencia. El modelo sería una herramienta útil en este aspecto, ya que permitiría resolver los resultados no concluyentes que se tienen sobre la farmacología del receptor GABA_B y su relación con las crisis epilépticas de ausencia (Hosford et al., 1992; Sato et al., 1990).

Finalmente, se propone el estudio del papel de la corriente de Ca²⁺ tipo T en la generación de patrones de disparo tipo SW en el modelo de la red hipocampal robusta antes propuesta, así como en el circuito de retroalimentación cortico-talámico-hipocampal. Además, se sugiere ahondar en el papel de la corriente AMPA sobre la sincronización neuronal y la interacción a gran escala de ambas corrientes con las mediadas por los receptores GABAérgicos. El estudio de ambas corrientes, su interacción con GABA y su farmacología en un modelo más robusto e integral, podría llevar a conclusiones generalizables acerca de la generación de patrones tipo SW en el circuito y su relación con las crisis de ausencia.

Material Suplementario

Papel de los canales de Calcio tipo T en la actividad de la neurona piramidal

Se observa que con $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.25 \text{ nA}$, el estímulo es suficiente para que el potencial de membrana muestre un voltaje adecuado en el que los canales de Ca²⁺ tipo T sensibles a voltaje se activen y generen disparos de tipo burst. Con $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.10 \text{ nA}$ se mantienen rangos negativos de voltaje en el que se activan los canales de Ca²⁺, sin embargo, estos permanecen más tiempo en un estado inactivo, lo que disminuye la frecuencia de generación de los burst. Al disminuir aún más la corriente aplicada ($I_{ap}(\text{Pir}) = 0.01 \text{ nA}$), aún se pueden generar bursts de actividad, pero aumenta el tiempo de inactivación de los canales, haciéndolos aún más infrecuentes. Por último, a corrientes aplicadas negativas ($I_{ap}(\text{Pir}) = -0.02 \text{ nA}$), el potencial de membrana disminuye a -78 mV , al cual los

canales Ca^{2+} tipo T no pueden activarse. Por otra parte, la actividad de la interneurona se ve en sincronía con la piramidal por la corriente postsináptica de AMPA que las interconecta (S1A-C), sin embargo, cuando la neurona piramidal no genera disparos (S1D), la interneurona muestra su actividad típica de disparo rápido al perder la modulación por la corriente AMPA.

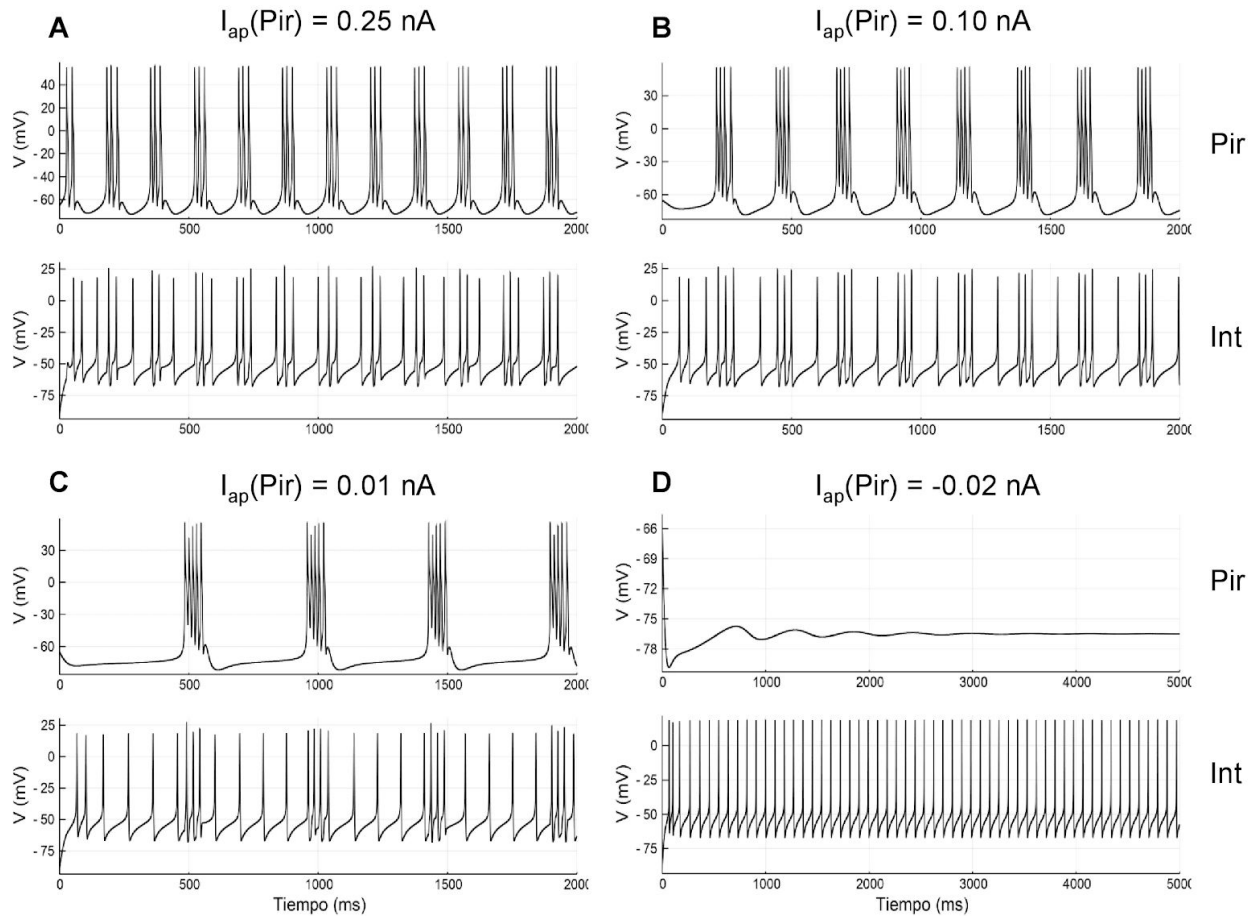


Fig S1. Actividad neuronal dependiente de la corriente mediada por canales de Ca^{2+} tipo T a diferentes corrientes aplicadas. Con una $I_{ap}(\text{Int}) = 0.20 \text{ nA}$ y corrientes sinápticas GABA al 0%, se observan diferentes comportamientos de la neurona piramidal (Pir) y la interneurona (Int). A) Con $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.25 \text{ nA}$, la Pir muestra disparos de tipo bursts regulares y periódicos, separados por $\sim 200 \text{ ms}$. B) Con $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.10 \text{ nA}$, la Pir muestra disparos de tipo bursts regulares y periódicos, separados por $\sim 250 \text{ ms}$. C) Con $I_{ap}(\text{Pir}) = 0.01 \text{ nA}$, la Pir muestra disparos de tipo bursts regulares y periódicos, separados por $\sim 500 \text{ ms}$. D) Con $I_{ap}(\text{Pir}) = -0.02 \text{ nA}$, la actividad de la Pir se anula completamente. En los paneles A-C, la interneurona muestra actividad sincrónica con los disparos burst de la Pir; mientras que en el panel D, la Int presenta su actividad típica de disparo rápido.

Corrientes sinápticas GABA_A , GABA_B y AMPA correspondientes a las experimentos principales (Fig. 2, 3 y 4)

Estas figuras corresponden a las corrientes sinápticas de los experimentos mostrados en la sección de Resultados. Cabe recalcar que para obtener las dinámicas neuronales se variaron los valores de $I_{ap}(\text{Pir})$ e $I_{ap}(\text{Int})$, lo cual debe considerarse al interpretar los siguientes resultados, ya que las I_{ap} tienen un impacto en la corriente máxima alcanzada. El pico máximo de corriente alcanzado por la corriente de GABA_A es de 125 nA -aunque cambia entre resultados-, mientras

que el de la corriente de GABA_B es de 1.0 nA y la de AMPA es de -1.0 nA. Además, existe una diferencia en las dinámicas temporales de activación-inactivación de cada una de las corrientes: la corriente GABA_A y AMPA presentan una dinámica temporal rápida (del orden de 10 ms) mientras que la la corriente GABA_B presenta una activación rápida pero una inactivación lenta, con una duración total de la dinámica de ~300 ms. Este comportamiento se debe a las propiedades biofísicas de los receptores y demuestra la predominancia de la corriente de GABA_A sobre la de GABA_B, previamente discutida.

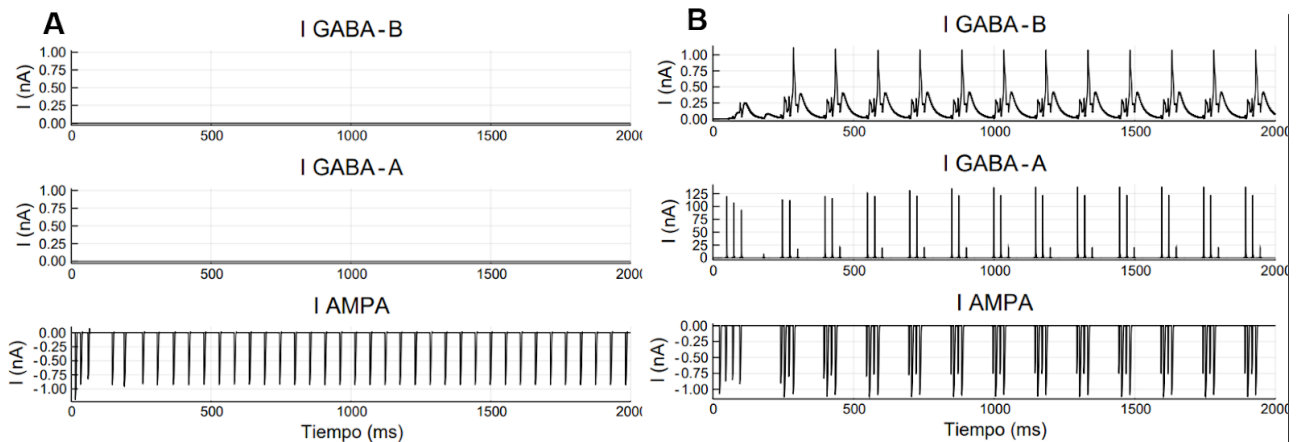


Figura S2. Corrientes sinápticas al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores GABA al 0% y 100%. Se observa el cambio en la corriente (I) en el tiempo de cada una de las corrientes sinápticas. A) En ausencia de las corrientes mediadas por GABA_A (0%) y GABA_B (0%), se observa que la corriente se mantiene constante en cero, AMPA varía en un rango de 0 a -1.0 nA con una dinámica de activación-inactivación de ~10 ms. B) Con la presencia total de la conductancia de GABA_A (100%) y GABA_B (100%) se observa que el pico máximo de la corriente GABA_B llega a 1.0 nA, con una dinámica temporal de activación-inactivación de ~300 ms, mientras que la corriente GABA_A llega a un máximo de 125 nA, con una dinámica temporal de activación-inactivación de ~10 ms. La corriente AMPA mantiene su pico en -1.0 nA, con una dinámica de activación-inactivación de ~10 ms. Los parámetros de esta simulación corresponden a los de la Figura 2 en la sección de Resultados.

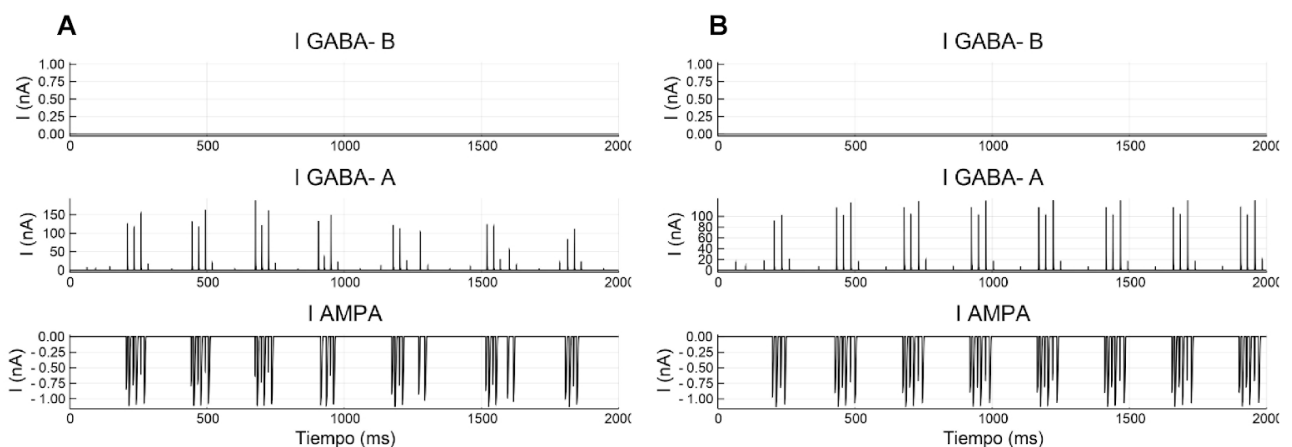


Figura S3. Corrientes sinápticas al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores GABA_A en presencia de una conductancia de GABA_B al 0%. Se observa el cambio en la corriente (I) en el tiempo de cada una de las corrientes sinápticas. A) En ausencia de la corriente mediada por los receptores GABA_B (0%) y un 100% de conductancia de la corriente mediada por GABA_A, se observa que la corriente de GABA_B se mantiene en 0.0 nA, mientras que la corriente GABA_A llega a un pico máximo de 150 nA con una dinámica temporal de activación-inactivación de ~10 ms. B) Con un 50% de conductancia de la corriente mediada por GABA_A, la corriente de GABA_B se mantiene en 0.0 nA, mientras que la corriente de GABA_A muestra un pico de aprox. 120 nA y una dinámica

temporal de activación-inactivación de ~10 ms. La corriente de AMPA oscila entre valores de 0.0 y -1.0 nA, con una dinámica temporal de activación-inactivación de ~10 ms en ambos casos (A y B). Los parámetros de esta simulación corresponden a los de la Figura 3 en la sección de Resultados.

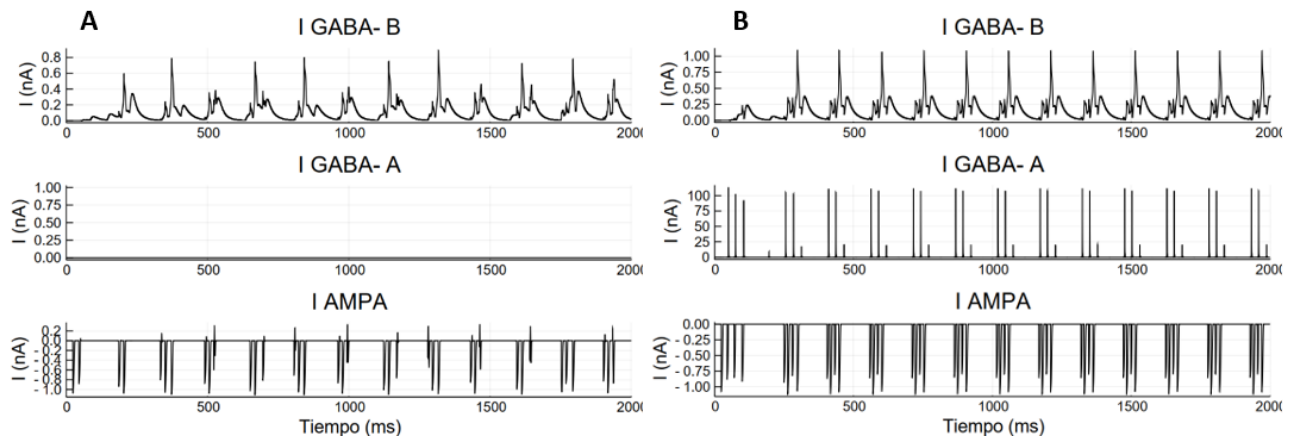


Figura S4. Corrientes sinápticas al variar la conductancia de la corriente mediada por los receptores $GABA_A$ en presencia de una conductancia de $GABA_B$ al 100%. Se observa el cambio en la corriente (I) en el tiempo de cada una de las corrientes sinápticas. A) En ausencia de la corriente sináptica mediada por $GABA_A$ (0%) se puede observar que el pico máximo de la corriente $GABA_B$ llega a 0.8 nA, con una dinámica temporal de activación-inactivación de ~300 ms, en comparación a la corriente de AMPA que oscila entre valores de 0.2 y -1.0 nA con una dinámica temporal de ~10 ms. La corriente de $GABA_A$ se mantiene constante en 0.0 nA. B) Con el 50% de la conductancia de $GABA_A$, se puede observar un cambio en el pico máximo de $GABA_B$ (ahora en 1.0 nA) y una dinámica temporal de activación-inactivación de ~300 ms, mientras el pico máximo de $GABA_A$ llega a 100 nA y su dinámica de activación-inactivación es de ~10 ms, mientras que la corriente de AMPA presenta un pico en -1.0 nA y su dinámica temporal es de ~10 ms. Los parámetros de esta simulación corresponden a los de la Figura 4 en la sección de Resultados.

Referencias

- Arcaro, J., Ma, J., Chu, L., Kuo, M., Mirsattari, S. M., & Stan Leung, L. (2016). The hippocampus participates in a pharmacological rat model of absence seizures. *Epilepsy Research*, 120, 79–90. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.12.007>
- Avoli, M., Gloor, P., Kostopoulos, G., & Gotman, J. (1983). An analysis of penicillin-induced generalized spike and wave discharges using simultaneous recordings of cortical and thalamic single neurons. *Journal of Neurophysiology*, 50(4), 819–837. <https://doi.org/10.1152/jn.1983.50.4.819>
- Buzsáki, G., Smith, A., Berger, S., Fisher, L. J., Gage, F. H., Aston-Jones, G., & Bloom, F. E. (1990). Petit mal epilepsy and parkinsonian tremor: Hypothesis of a common pacemaker. *Neuroscience*, 36(1), 1–14. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90345-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90345-5)
- Cutsuridis, V., Graham, B. P., Cobb, S., & Vida, I. (2019). *Hippocampal Microcircuits: A Computational Modeler's Resource Book* (Second). Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=8nuGDwAAQBAJ>

- Destexhe, A., Mainen, Z. F., & Sejnowski, T. J. (1994a). An Efficient Method for Computing Synaptic Conductances Based on a Kinetic Model of Receptor Binding. *Neural Computation*, 6(1), 14–18. <https://doi.org/10.1162/neco.1994.6.1.14>
- Destexhe, A., Mainen, Z. F., & Sejnowski, T. J. (1998b). Kinetic models of synaptic transmission: From Ions to Networks. *Methods in Neural Modeling: From Ions to Networks*, 1–25.
- Destexhe, A., & Sejnowski, T. J. (1995). G protein activation kinetics and spillover of gamma-aminobutyric acid may account for differences between inhibitory responses in the hippocampus and thalamus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(21), 9515 LP – 9519. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.21.9515>
- Destexhe, A. (1998a). Spike-and-wave oscillations based on the properties of GABA(B) receptors. *Journal of Neuroscience*, 18(21), 9099–9111. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-21-09099.1998>
- Destexhe, Alain, Mainen, Z. F., & Sejnowski, T. J. (1994b). Synthesis of models for excitable membranes, synaptic transmission and neuromodulation using a common kinetic formalism. *Journal of Computational Neuroscience*, 1(3), 195–230. <https://doi.org/10.1007/BF00961734>
- Filatov, G., Krishnan, G. P., Rulkov, N. F., & Bazhenov, M. (2011). Dynamics of epileptiform activity in mouse hippocampal slices. *Journal of Biological Physics*, 37(3), 347–360. <https://doi.org/10.1007/s10867-011-9216-x>
- Gambardella, A., & Labate, A. (2014). The role of calcium channel mutations in human epilepsy. In *Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 213). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63326-2.00004-1>
- Gibbs, J. W., Schroder, G. B., & Coulter, D. A. (1996). GABAA receptor function in developing rat thalamic reticular neurons: whole cell recordings of GABA-mediated currents and modulation by clonazepam. *Journal of Neurophysiology*, 76(4), 2568–2579. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.4.2568>
- Hosford, D. A., Clark, S., Cao, Z., Wilson, W. A., Lin, F. H., Morrisett, R. A., & Huin, A. (1992). The role of GABAB receptor activation in absence seizures of lethargic (lh/lh) mice. *Science*, 257(5068), 398 LP – 401. <https://doi.org/10.1126/science.1321503>
- Hu, H., Gan, J., & Jonas, P. (2014). Fast-spiking, parvalbumin⁺ GABAergic interneurons: From cellular design to microcircuit function. *Science*, 345(6196), 1255263. <https://doi.org/10.1126/science.1255263>
- Huguenard, J. R., & McCormick, D. A. (1992). Simulation of the currents involved in rhythmic oscillations in thalamic relay neurons. *Journal of Neurophysiology*, 68(4), 1373–1383. <https://doi.org/10.1152/jn.1992.68.4.1373>
- Huguenard, J. R., & Prince, D. A. (1994). Clonazepam suppresses GABAB-mediated inhibition in thalamic relay neurons through effects in nucleus reticularis. *Journal of Neurophysiology*, 71(6), 2576–2581. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.71.6.2576>

- Inoue, M., Duysens, J., Vossen, J. M. H., & Coenen, A. M. L. (1993). Thalamic multiple-unit activity underlying spike-wave discharges in anesthetized rats. *Brain Research*, 612(1), 35–40. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)91641-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91641-5)
- Leresche, N., & Lambert, R. C. (2018). GABA receptors and T-type Ca²⁺ channels crosstalk in thalamic networks. *Neuropharmacology*, 136, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.006>
- Maccaferri, G., Mangoni, M., Lazzari, A., & DiFrancesco, D. (1993). Properties of the hyperpolarization-activated current in rat hippocampal CA1 pyramidal cells. *Journal of Neurophysiology*, 69(6), 2129–2136. <https://doi.org/10.1152/jn.1993.69.6.2129>
- Kandel, E. R., Jessell, T. M., Schwartz, J. H., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (2013). *Principles of Neural Science, Fifth Edition*. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=s64z-LdAlsEC>
- McCormick, D. A. (1992). Cellular mechanisms underlying cholinergic and noradrenergic modulation of neuronal firing mode in the cat and guinea pig dorsal lateral geniculate nucleus. *The Journal of Neuroscience*, 12(1), 278 LP – 289. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-01-00278.1992>
- McCormick, D. A., & Huguenard, J. R. (1992). A model of the electrophysiological properties of thalamocortical relay neurons. *Journal of Neurophysiology*, 68(4), 1384–1400. <https://doi.org/10.1152/jn.1992.68.4.1384>
- Pavlov, I., Savtchenko, L. P., Song, I., Koo, J., Pimashkin, A., Rusakov, D. A., & Semyanov, A. (2014). Tonic GABA-A conductance bidirectionally controls interneuron firing pattern and synchronization in the CA3 hippocampal network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(1), 504 LP – 509. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308388110>
- Perez-Reyes, E. (2003). Molecular Physiology of Low-Voltage-Activated T-type Calcium Channels. *Physiological Reviews*, 83(1), 117–161. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2002>
- Prevett, M. C., Duncan, J. S., Jones, T., Fish, D. R., & Brooks, D. J. (1995). Demonstration of thalamic activation during typical absence seizures using H₂¹⁵O and PET. *Neurology*, 45(7), 1396 LP – 1402. <https://doi.org/10.1212/WNL.45.7.1396>
- Sato, K., Morimoto, K., Okamoto, M., Nakamura, Y., Otsuki, S., & Sato, M. (1990). An analysis of anticonvulsant actions of GABA agonists (progabide and baclofen) in the kindling model of epilepsy. *Epilepsy Research*, 5(2), 117–124. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0920-1211\(90\)90027-S](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0920-1211(90)90027-S)
- Smith, K. A., & Fisher, R. S. (1996). The selective GABAB antagonist CGP-35348 blocks spike-wave bursts in the cholesterol synthesis rat absence epilepsy model. *Brain Research*, 729(2), 147–150. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00174-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00174-6)

- Suzuki, S., & Rogawski, M. A. (1989). T-type calcium channels mediate the transition between tonic and phasic firing in thalamic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(18), 7228 LP – 7232. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.18.7228>
- 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. *Journal of Neurophysiology*, 66(2), 635–650. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.66.2.635>
- Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, 91(2), 260–292. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>
- Tsakiridou, E., Bertollini, L., de Curtis, M., Avanzini, G., & Pape, H. C. (1995). Selective increase in T-type calcium conductance of reticular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 15(4), 3110 LP – 3117. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-04-03110.1995>
- von Krosigk, M., Bal, T., & McCormick, D. A. (1993). Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science*, 261(5119), 361 LP – 364. <https://doi.org/10.1126/science.8392750>
- Yamada, W. M., Koch, C., and Adams, P. (1989). Multiple channels and calcium dynamics. In C. Koch and I. Segev. (Ed.), *Methods in Neuronal Modeling* (pp. 97–133). Cambridge, MA.