

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SEDE SUR

DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA

“Influencia de la activación inmune materna sobre la transmisión sináptica
mediada por receptores metabotrópicos en la sinapsis fibras musgosas-CA3
del hipocampo”

T E S I S

que presenta

Lic. en Biol. Johaly Del Carmen Anguiano Buenfil

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS
EN
NEUROFARMACOLOGÍA Y TERAPEÚTICA EXPERIMENTAL

DIRECTOR DE LA TESIS:

Dr. Emilio Javier Galván Espinosa

Ciudad de México

Julio, 2021

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, en el laboratorio número 9, bajo la dirección del Dr. Emilio Javier Galván Espinosa. Con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca que me fue dada con el número 727433 y con el proyecto CB-281617 (EG).

ÍNDICE	
Índice de Figuras.	5
Índice de Tablas.	6
Abreviaturas.....	7
Resumen	9
Abstract.....	10
INTRODUCCIÓN	1
Relación entre el sistema nervioso y el sistema inmune.....	1
Trastornos psiquiátricos y activación inmune materna.....	2
Modelos animales de Activación inmune materna.	2
Lipopolisacárido bacteriano (LPS) y su vía de señalización.	3
Sistema inmune y neurodesarrollo.	4
El hipocampo y la formación hipocampal.	6
Giro dentado y área CA3.	9
Las fibras musgosas.....	10
Transmisión glutamatérgica en las fibras musgosas.	12
Receptores ionotrópicos de glutamato.....	13
Receptores metabotrópicos de glutamato.	15
Plasticidad sináptica en las fibras musgosas.	18
Facilitación sináptica.	21
Potenciación a Corto Plazo.....	23
Depresión sináptica en la sinapsis MF – CA3.	23
Trasmisión mediada por mGluRs y trastornos psiquiátricos.	25
Activación inmune materna y Giro dentado.	26
JUSTIFICACIÓN	27
HIPOTESIS	27
OBJETIVOS	27
OBJETIVO GENERAL	27
OBJETIVOS PARTICULARES	28
MATERIAL Y MÉTODOS	29
Modelo de activación inmune materna.	29
Registros electrofisiológicos.....	30
Fármacos.....	31
Análisis estadísticos.....	32
Modelo BMC.	32
RESULTADOS	33
La activación inmune materna modifica la fuerza sináptica en las sinapsis FM-CA3 del hipocampo en las ratas.	34
La AIM disminuye la facilitación por frecuencia de estimulación y por pulso pareado en las sinapsis FM - CA3.....	38
La AIM no afecta la inducción de depresión a largo plazo (MF LTD) mediada por el receptor metabotrópico mGluR2.....	40

La AIM altera la inducción de LTD mediada por los receptores mGluR1/5 en la sinapsis FM – CA3..	43
La activación inmune materna modifica el umbral θ M.....	47
DISCUSIÓN.....	49
Alteraciones sistémicas en las ratas gestantes.....	50
Alteraciones en la fuerza de la transmisión sináptica y plasticidad a corto plazo mediadas por AIM.	50
Inducción de LTD y activación inmune materna.....	53
Depresión mediada por receptores metabotrópicos del grupo I y AIM.....	54
Modificación del umbral θ M por AIM inducida con LPS.....	55
CONCLUSIÓN.....	57
PERSPECTIVAS.....	57
REFERENCIAS.....	58

Índice de Figuras.

Figura 1. Vía de señalización del LPS-TLR4	4
Figura 2. Esquema representativo de sección septo-temporal de hipocampo	7
Figura 3. Comparación entre el Hipocampo humano disectado y un caballito de mar	7
Figura 4. Conectividad sináptica de la formación hipocampal “Circuito trisináptico”	8
Figura 5. Tinción mostrando las capas del giro dentado	10
Figura 6. Conectividad de las Fibras musgosas	11
Figura 7. Estructura general de los receptores ionotrópicos de glutamato	14
Figura 8. Estructura general de los receptores metabotrópicos de glutamato	16
Figura 9. Modelo de plasticidad BMC	20
Figura 10. Modelo BMC aplicado experimentalmente a las sinapsis CS-CA1	21
Figura 11. La activación inmune materna disminuye la respuesta máxima de EP en curvas E-S de espigas poblacionales.	35
Figura 12. La AIM disminuye la fuerza sináptica en curvas E-S de MF fEPSP	37
Figura 13. La AIM provoca alteraciones en los mecanismos de facilitación por frecuencia de estimulación	38
Figura 14. Alteraciones en la facilitación por pulso pareado causadas por AIM	40
Figura 15. Efecto de la AIM en la LTD a las 4 semanas	42
Figura 16. Efecto de la estimulación o bloqueo de los receptores mGlu1 y mGlu5 en la sinapsis FM-CA3	44

Figura 17. Efecto de la activación inmune materna sobre la plasticidad mediada por mGluR I en FM- CA3	46
Figura 18. Alteraciones sobre el umbral de modificación (BMC) en FM-CA3 causadas por la AIM	48
Figura 19. Resumen de resultados.	49

Índice de Tablas.

Tabla 1. Porcentaje de depresión (d) o potenciación (p) del MF EPSP en respuesta a diferentes frecuencias de estimulación. (n= 3 rebanadas/ 3 animales para cada condición experimental)	47
--	-----------

Abreviaturas.

AMPA	Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
CA1	Cuerpo de Amón 1
CA2	Cuerpo de Amón 2
CA3	Cuerpo de Amón 3
CD14	Del inglés Cluster of differentiation 14
DCG-IV	(2S,2'R,3'R)-2-(2',3'-Dicarboxiciclopropil) glicina
DG	Día Gestacional
DP	Día Postnatal
E-S	Entrada-Salida
MF	- fEPSPs Potenciales Post Sinápticos Excitadores de campo de las fibras musgosas
FMs	Fibras Musgosas
GABA	Ácido Gamma Amino Butírico
GAD67	Glutamato Descarboxilasa 67
GD	Giro Dentado
IKK	Cinasa inducida por NFkB
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IPP	Índice de pulsos pareados
IRF-3	Factor de regulación del interferón 3
LBP	Proteína de unión a lipopolisacárido
LFS	Estimulación a baja frecuencia
LPS	Lipopolisacárido
LTD	Depresión a largo plazo
FM-CA3	Fibra musgosa-Cuerpo de Amón 3
MD2	Antígeno de linfocitos 96
mGluR5	Receptores metabotrópicos de Glutamato tipo 5
MAPKs	Proteínas cinasas activadas por mitógeno
MyD88	Proteína de diferenciación mieloide

NFkB Factor Nuclear Kappa B
NMDA N-Metil-D-Aspartato
NMDG N-Metil-D-Glucamina
EP Espiga Poblacional
PTX Picrotoxina
SNC Sistema Nervioso Central
TAK1 Factor beta de crecimiento activado por cinasa 1
VIII TIRAP Proteína adaptadora del dominio TIR
TIR Receptores Toll de Interleucina 1
TNF- α Factor de Necrosis Tumoral alfa
TNFR1 Receptor 1 para TNF
TLR4 Receptor tipo Toll 4
TRAF3 Factor 3 asociado al factor de necrosis tumoral
TRAF6 Factor 6 asociado al factor de necrosis tumoral
TRAM Molécula adaptadora relacionada con el TRIF
TRIF Proteína adaptadora asociada al dominio TIR inductora de interferón 13

Resumen

La activación inmune materna (AIM) causada por la exposición a patógenos o inflamación es un factor de riesgo para el desarrollo de déficits conductuales y trastornos psiquiátricos como esquizofrenia y autismo en la descendencia. Diversos estudios en modelos animales han documentado cambios estructurales del sistema nervioso central y afectaciones conductuales en la descendencia tras la exposición materna a un lipopolisacárido bacteriano (LPS) durante la gestación. A pesar del creciente interés en la AIM en el desarrollo de alteraciones neuronales, queda un amplio espectro de efectos por explorar dentro de las alteraciones que la AIM ocasiona. Por ejemplo, la disfunción en la transmisión sináptica glutamatérgica, que recientemente se ha asociado con trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia. El glutamato, además de mediar respuestas rápidas, regula de manera gradual la transmisión sináptica. Esto se debe a la gran diversidad de receptores glutamatérgicos, entre ellos, los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR), un grupo de receptores acoplados a proteína G que ejercen una amplia gama de acciones moduladoras en las sinapsis excitadoras del sistema nervioso central (SNC). La activación selectiva de los diferentes mGluR modula la excitabilidad intrínseca, la fuerza de la transmisión sináptica e induce múltiples formas de plasticidad a largo plazo. A pesar de la relevancia de los mGluR en la función normal del SNC, sabemos muy poco sobre los cambios que experimentan durante los trastornos psiquiátricos. Por lo que en este trabajo analizamos como la AIM influye en ciertas formas de plasticidad moduladas por los mGluR en el área CA3 del hipocampo. Utilizando registros extracelulares, perfilamos las alteraciones en la transmisión sináptica de esta región causadas por la exposición materna a LPS durante la gestación. Se encontró que, a partir de los 30 días postnatales, la AIM causa una disminución en la fuerza sináptica, disminuye la facilitación por frecuencia de estimulación y por pulso pareado, provoca fallos en la inducción de la mGluR-LTD inducida con (S)-3,5- Dihidroxifenilglicina (DHPG) y modificaciones en el umbral θ_M en las sinapsis excitadoras del hipocampo.

Abstract

Maternal immune activation (MIA) resulting from systemic inflammation or exposure to pathogens during critical periods of embryonic development is a significant risk factor for behavioral deficits and psychiatric disorders in the offspring. Previous studies have focused on neurologic changes and behavioral impairments following maternal exposure to Lipopolysaccharide (LPS). Although a broad spectrum of behavioral abnormalities has been identified in animals exposed to LPS – induced MIA, the possible alterations in synaptic transmission are barely understood. Moreover, dysregulation of glutamatergic transmission is currently associated with psychiatric disorders. The metabotropic glutamate receptors (mGluRs) are a group of G-protein-coupled receptors that exert a broad array of modulatory actions at excitatory synapses. mGluRs modulates the intrinsic excitability and strength of the synaptic transmission and induces multiple forms of long-term plasticity. Despite the relevance of mGluRs in the brain's normal function, little is known about the changes that mGluRs functionality exhibits after MIA exposure during embryonic development. Here, we identify a series of alterations of the synaptic transmission modulated by mGluRs on the mossy fiber – CA3 synapse. Collectively, our results indicate a reduction in the strength of the glutamatergic transmission, decreased MF paired-pulse ratio, and impairment in the induction of long-term depression of animals exposed to MIA. This work demonstrates that in response to MIA, the MF – CA3 synapse exhibits a series of modifications that may contribute to the development of psychiatric disorders such as schizophrenia.

INTRODUCCIÓN.

Relación entre el sistema nervioso y el sistema inmune.

El sistema nervioso central (SNC) y el sistema inmunológico (SI) actúan coordinadamente en una variedad de respuestas esenciales para la sobrevivencia del organismo (Steinman, 2004). Estos sistemas se comunican a través de mensajeros químicos que van desde moléculas pequeñas como el óxido nítrico, péptidos neuroendocrinos como el factor liberador de corticotropina (CRF), hasta proteínas como citocinas y factores de crecimiento (Engblom *et al.*, 2002; Steinman, 1993; Baumann *et al.*, 1996; Goehler *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2003).

Además de los mensajeros químicos, existen múltiples conexiones anatómicas y fisiológicas entre el SNC y el SI, entre las cuales se incluyen el sistema nervioso autónomo a través del nervio vago y las fibras nerviosas simpáticas que conectan con hígado, bazo, médula ósea, timo, ganglios linfáticos, piel y el sistema gastrointestinal (Steinman, 1993; Livnat *et al.*, 1985; Felten *et al.*, 1998).

Al día de hoy, se han descrito tres tipos de interacciones entre estos sistemas: 1) el SNC actúa recíprocamente con el SI; 2) el SNC regula al SI; o 3) el SI regula al SNC (Steinman, 2004). El ejemplo más claro de una interacción recíproca, es la orquestación del SNC de una respuesta febril en reacción a la movilización del SI contra una infección (Blatteis, 2000). Así, una infección es uno de los principales estímulos para que el SI module al SNC. Por otro lado, el SNC puede modular al SI en respuesta al estrés ambiental a través de la hipófisis (Steinman, 2003). Las interacciones entre el SNC y el SI son diversas y complejas. Por ende, existe un marco sustancial por explorar.

Trastornos psiquiátricos y activación inmune materna.

Es un hecho que el SI mantiene una comunicación activa con el SNC y periférico. De igual manera, diversos neurotransmisores modulan la actividad del SI. Bajo este contexto, se ha documentado que la activación de la respuesta inmune es capaz de modificar la excitabilidad intrínseca y transmisión sináptica neuronal (Roumier *et al.*, 2008; Patrich *et al.*, 2016).

La activación del sistema inmune durante ciertas etapas del desarrollo embrionario representa un factor de riesgo para el desarrollo de trastornos psiquiátricos. Esta conexión ha generado un creciente interés entre activación inmune materna (AIM) y la propensión a desarrollar esquizofrenia y trastornos dentro del espectro autista (Solek *et al.*, 2018; Rott *et al.*, 1985; Mednick *et al.*, 1988; Brown *et al.*, 2004; Hyman *et al.*, 2005; Mortensen *et al.*, 2007; Yolken *et al.*, 2009). En conjunto, estos hallazgos sugieren que la AIM interfiere con el neurodesarrollo de la progenie (Solek *et al.*, 2018).

Modelos animales de Activación inmune materna.

Diversos modelos animales han explorado la inflamación en hembras gestantes. Entre los más exitosos destacan aquellos en los que se administra un lipopolisacárido bacteriano (LPS) (vía intraperitoneal (IP) o sistémica). El LPS induce activación de la respuesta inmune innata en la madre, y conlleva a la producción de citocinas proinflamatorias, activación del eje hipotálamo-pituitario-adrenal con la concomitante generación de fiebre. Existe una ventana de tiempo que resulta crítica para asociar a la activación inmune materna con la propensión a desarrollar enfermedades psiquiátricas: dicha propensión se vuelve estadísticamente significativa si la AIM se presenta entre el primer y segundo trimestre del embarazo (Boksa, 2010).

Lipopolisacárido bacteriano (LPS) y su vía de señalización.

El LPS es un componente de la pared celular de bacterias GRAM negativas. Este se une al receptor TLR4 (un receptor integral de membrana tipo 1), presente en varios tipos de células del sistema inmune, activando vías de señalización que desencadenan una respuesta inflamatoria (Reisinger *et al.*, 2015) (Figura 1). En células del SI, la activación del TLR4 se produce a través de una serie de interacciones con diversas proteínas, incluida la proteína de unión a LPS (LBP), CD14 y MD-2 (Schultz *et al.*, 2007). LBP es una proteína de unión que facilita la asociación entre LPS y CD14 (Tobias *et al.*, 1986). A su vez, CD14 se encuentra anclada a la membrana celular por un glucosilfosfatidilinositol; CD14 facilita la transferencia de LPS al complejo TLR4 / MD-2 y modula el reconocimiento de LPS (Wright *et al.*, 1990). De esta manera, el LPS se une al receptor TLR4 e induce la formación del complejo TLR4-MD2-LPS, lo que recluta dominios TIR del receptor para unirse entre sí e iniciar la señalización.

De manera canónica, el LPS tiene dos vías de señalización: la vía dependiente de MyD88 y la dependiente de TRIF (Yong-Chen *et al.*, 2008). En la vía dependiente de MyD88, la proteína TIRAP se une al dominio TIR y recluta a MyD88. Posteriormente se lleva a cabo la activación de TRAF 6 (Factor asociado al receptor de TNF 6) mediante IRAK-1 e IRAK-4, que conducen a la activación de TAK 1. Este complejo activará otro complejo de cinasas (IKK), y el factor nuclear Kappa beta (NF- κ B) que llevará a la subsecuente activación de genes para la producción de citocinas proinflamatorias. La activación de TAK1 también activará MAPKs (MAP cinasas) como JNK y p38, que a su vez activarán AP-1 (Akira *et al.*, 2006).

En la vía dependiente de TRIF, la proteína TRAM se une al dominio TIR del TLR4, y recluta a las proteínas TRIF, TRAF6, y TRAF3. TRAF6 interactúa con RIP-1 y activa a TAK1. TRAF-3 activa el complejo IKK y TBK1 que conducen a la activación de IFR3, para producir la transcripción de genes que codifican para interferones tipo I (Bowi & Haga, 2005; Perry *et al.*, 2005; Kawasaki y Kawai, 2014).

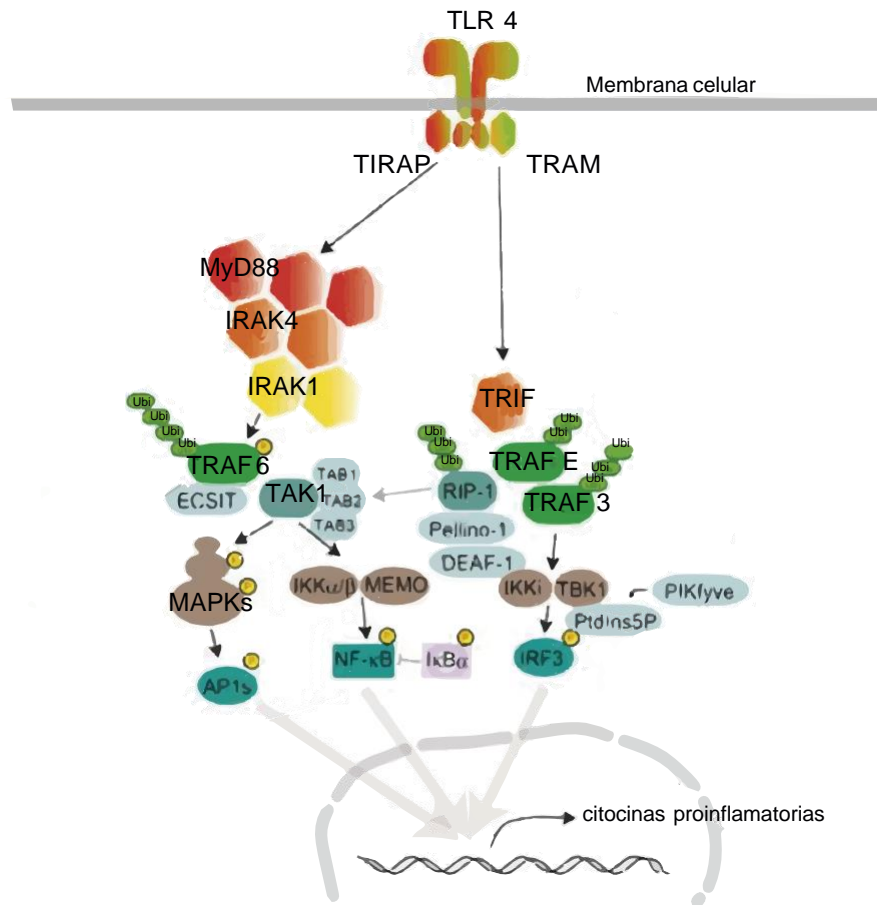


Figura 1. Vías de señalización de TLR4 al unirse a LPS. La vía dependiente de MyD88, activa NF-κB para la transcripción de genes y producción de citocinas proinflamatorias. La vía dependiente de TRIF activa IRF y estimula la transcripción de genes que codifican la producción de interferones tipo I. Tomado y modificado de Kawasaki y Kawai (2014).

Sistema inmune y neurodesarrollo.

¿Cómo es que la activación del sistema inmune innato de la madre puede afectar el desarrollo del SNC de las crías durante la gestación? En respuesta a esta interrogante, a continuación, se presentan una serie de mecanismos que subyacen a la regulación que ejerce el sistema inmune sobre el desarrollo del sistema nervioso.

Durante el desarrollo y maduración del SNC, el SI participa activamente mediante la microglía, el componente celular del sistema inmune innato presente en el SNC (Lenz & Nelson, 2018). La microglía es una población de macrófagos residentes del SNC,

donde la infiltración de monocitos y linfocitos periféricos es limitada (Engelhardt, 2008). Estas células derivan del saco vitelino y células madre de médula ósea; migran al SNC de forma temprana durante el desarrollo y permanecen en él como una población residente (Quesada *et al.*, 2016).

En condiciones homeostáticas (en mamífero adulto), las células de la microglía se encuentran en un estado inactivo, y solo monitorean el ambiente cerebral. En estados patológicos como el trauma cerebral o los procesos infecciosos, estas células modifican su fenotipo y entran en un estado activo conocido como M1. En esta condición, los receptores de membrana de la microglía tienen la capacidad de reconocer antígenos exógenos y liberar citocinas proinflamatorias (Shrikant & Benveniste, 1996). Adicionalmente, durante el desarrollo embrionario normal, la microglía se encuentra en estado M1 y presenta morfología tipo ameboide con función fagocítica activa (Deverman & Patterson, 2009).

La microglía regula el desarrollo y maduración neuronal a través de dos vías: la secreción de citocinas y la fagocitosis (Hoshiko *et al.*, 2012; Lenz *et al.*, 2013). Las citocinas son glucoproteínas extracelulares, hidrosolubles. Se clasifican en interleucinas (IL), factores de necrosis tumoral (TNF); quimiocinas (citocinas quimiotácticas); interferones (IFN) y factores de crecimiento mesenquimal (Sommer & White, 2010). Entre las consideradas citocinas proinflamatorias se agrupan las interleucinas 1, 2, 6 y 7 (IL-1, IL-2, IL-6, IL-7) así como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α). Las conocidas como citocinas antiinflamatorias son las interleucinas IL-4, IL-10, IL-13 y FTCS β (factor transformador de crecimiento β) (Barros *et al.*, 2012).

Se ha reportado que durante el desarrollo intrauterino, la microglía embrionaria secreta IL-1 β , IL-6, IL-1, IL-11 y TNF- α . La IL-1 β promueve proliferación celular de células madre durante la neurogénesis (Carpentier & Palmer, 2009). La IL-6 y la IL-11 promueven diferenciación y supervivencia de oligodendrocitos (Barres *et al.*, 1993). Por otra parte, el interferón gamma (IFN- γ), una citocina promotora de fagocitosis, induce muerte celular en oligodendrocitos y sus progenitores (LaFerla *et al.*, 2000).

Además, el IFN- γ inhibe el crecimiento dendrítico en neuronas hipocampales y simpáticas y causa retracción de dendritas ya existentes (Kim *et al.*, 2002). Por otra parte, la IL-1 es un mitógeno específico para astrocitos que alcanza su nivel más alto durante la astrogliogénesis (Giulian *et al.*, 1988). Los astrocitos, que son las principales células gliales, producen gran cantidad de factores que a su vez, promueven la sinaptogénesis (Barres, 2008). Sin embargo, la formación de sinapsis postsinápticas activas requiere TNF- α proveniente de la microglía. El TNF- α es un importante regulador de la apoptosis, sinaptogénesis además de modular la fuerza sináptica neuronal (Cingolani *et al.*, 2008; Carpentier & Palmer, 2009).

Al mismo tiempo, la función fagocítica de la microglía es esencial para la consolidación de los circuitos cerebrales mediante el proceso de poda neuronal. Además, su actividad fagocítica controla la cantidad de células progenitoras neuronales durante el desarrollo y la adultez (Wang *et al.*, 2002; Deverman y Patterson, 2009).

Si la actividad de la microglía embrionaria sufre alteraciones debido a factores externos (como lo es una infección sistémica), esto se refleja en el desarrollo del SNC (Morgan *et al.*, 2010; Wei *et al.*, 2012). Por ejemplo, en ratas gestantes infectadas con LPS, se incrementa la síntesis de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α). Dichas interleucinas atraviesan la barrera placentaria y actúan en el SNC en desarrollo, inhibiendo la microglía (Camara *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2019).

El hipocampo y la formación hipocampal.

El hipocampo es una estructura mesolímbica asociada a procesos cognitivos, memoria y aprendizaje (Zola-Morgan & Squire, 1990). Del hipocampo se ha estudiado tanto su estructura y función en condiciones fisiológicas, como también su función en diversas patologías (Andersen, 2007). Aún así, y a pesar de la vasta información acerca de la fisiología hipocampal, se sabe muy poco acerca de las alteraciones que experimenta en respuesta a la activación de sistema inmunológico.

En el SNC, el hipocampo se encuentra ubicado dentro del lóbulo temporal medial (Figura 2). Se distingue externamente por su forma parecida a un caballito de mar (Figura 3). El hipocampo está formado por capas de neuronas densamente compactas, de las cuales, la principal es la capa de neuronas piramidales. Esta capa se divide en tres áreas principales, llamadas Cuernos de Amón 3, 2 y 1 (CA3, CA2 y CA1) (Lorente de Nó, 1934).

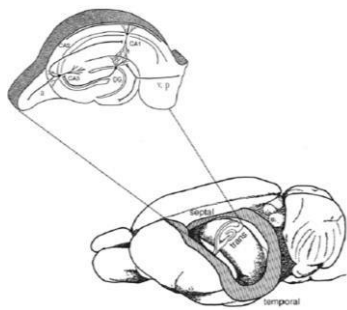


Figura 2. Cerebro de roedor, mostrando una sección septo-temporal y un corte transversal del hipocampo. DG; giro dentado, v.p; vía perforante, a; alveus, y regiones CA1, CA2 y CA3 del hipocampo. Tomado y modificado de Andersen *et al.*, 2007



Figura 3. Hipocampo de humano disectado (izquierda) y comparado con un ejemplar de *Hippocampus leiria* (derecha) Tomado y modificado de Andersen *et al.*, 2007.

Dentro del lóbulo temporal, el giro dentado, el hipocampo (CA3-CA2-CA1), las regiones conocidas como subiculum, presubiculum, parasubiculum, además de la corteza entorrinal, se encuentran altamente interconectadas. En conjunto, estas estructuras se conocen como formación hipocampal (Andersen, 2007) (Figura 4). La organización de la formación hipocampal permite visualizar sus conexiones como un circuito, conocido como circuito trisináptico, propuesto por Ramon y Cajal. Dada la complejidad de las conexiones neuronales del circuito hipocampal, la organización trisináptica hipocampal es un concepto que ha sido rebasado, y solo sirve como referencia para entender grosso modo, la conectividad de esta región cerebral.

En este contexto, la corteza entorrinal (CE) es la primera aferencia excitadora del hipocampo. Mucha de la información proveniente de la neocorteza, llega al hipocampo a través de la CE. Las células superficiales de la CE envían sus axones (conocidos genéricamente como vía perforante) al giro dentado (GD), donde hacen contacto con las células granulares, además de hacer sinapsis distales con las neuronas piramidales de CA3. A su vez, las neuronas granulares del GD, envían sus axones a la región CA3. Estos axones se denominan fibras musgosas (FM) y hacen contacto con neuronas piramidales e interneuronas GABAérgicas. Los axones de las neuronas de CA3 generan dos tipos de salidas sinápticas. Las que llegan a la región CA1 y reciben el nombre genérico de colaterales de Schaffer (sinapsis CA3 – CA1) y las que hacen conexiones sinápticas locales con otras neuronas piramidales de CA3 (sinapsis comisurales / asociacionales o CA3-CA3). Finalmente, los axones de CA1 proyectan al subiculum y a la CE, cerrando el circuito (Figura 4) (Amaral & Lavenex en: Andersen,2007).

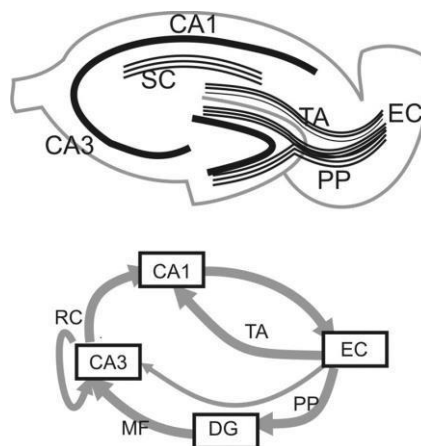


Figura 4. Representación gráfica de la conectividad sináptica entre el hipocampo y la formación hipocampal. La corteza entorrinal (CE) proyecta hacia el giro dentado (GD). Este proyecta hacia CA3, y CA3 hacia CA1. El último paso es la proyección de CA1 hacia CE. Sub: subiculum; Pre: presubiculum; Para; parasubiculum. Rogawski *et al.* (2012).

De las conexiones que se establecen entre las áreas de la formación hipocampal, las que van del giro dentado hacia CA3 del hipocampo son relevantes para este proyecto, dado que son las menos estudiadas en el ámbito de la activación inmune materna. Y son parte importante del circuito que se establece entre la formación hipocampal. Además de su relevancia en procesos de aprendizaje y memoria.

Giro dentado y área CA3.

En la última década, la investigación sobre trastornos psiquiátricos, incluidas las investigaciones de activación inmune materna, se han centrado principalmente en la neurogénesis del SNC adulto. La neurogénesis adulta es el proceso por el cual se generan nuevas neuronas durante esta etapa de la vida a partir de progenitores neurales. Las células progenitoras primero proliferan y luego se diferencian en neuronas inmaduras. Estas neuronas maduran y se vuelven funcionales una vez que han establecido conexiones eficientes (Tanti & Belzung, 2013). El giro dentado es una de las áreas donde existe neurogénesis adulta. Además de la importancia del GD en el proceso de neurogénesis, la interacción entre GD y CA3 es responsable del proceso de separación de patrones neuronales, reconocimiento espacial y orientación (McHugh *et al.*, 2007). La separación de patrones neuronales representa la ortogonalización de la transmisión sináptica para evitar el solapamiento de distintas representaciones o trazos de memoria a corto plazo (Marr, 1971; Treves y Rolls, 1992). Esta capacidad de codificar diferencialmente pequeños cambios derivados de estímulos muy similares. Es particularmente importante para la precisión en la codificación de memoria (Clelland *et al.*, 2009).

El GD está organizado en tres capas: la capa de células granulares, la capa molecular y la capa de células polimórficas (Figura 5). Los somas de las células granulares tienen forma elíptica y un diámetro aproximado de 10 μm . Las dendritas de estas células se

extienden perpendicularmente, en la capa molecular, formando múltiples contactos sinápticos con la corteza entorrinal. Estas dendritas emergen sólo de la porción apical del soma, por lo tanto, las células granulares son consideradas neuronas monopolares. Por el otro lado, los axones tienen origen en la porción basal del soma y se extienden sobre la capa de células polimórficas (o hilus).

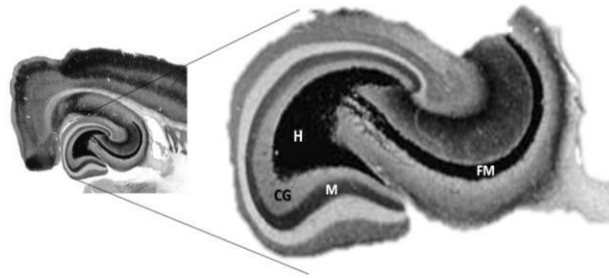


Figura 5. Sección del hipocampo de rata, teñido con sulfuro de plata, donde se observan las tres capas que forman al giro dentado. La primera capa, la más superficial, es la capa molecular (M), seguida a esta se encuentra la capa de células granulares (CG) y estas dos capas forman una C, la última capa es la capa de células polimórficas o hilus (H) donde pasan y hacen conexiones los axones de las células granulares, estos axones o fibras musgosas (FM) se extienden hacia CA3, por el *stratum lucidum*. Tomado y modificado de Andersen, 2007.

Las fibras musgosas.

Cada célula granular del GD da lugar a un axón no mielinizado de aproximadamente $0,2 \mu\text{m}$ de diámetro. Estos axones o FM son nombradas así por su similitud a las neuronas del cerebelo, que Cajal previamente había nombrado también con el nombre de Fibras musgosas (Claiborne *et al.*, 1986; Frotscher *et al.*, 1991; Acsady *et al.*, 1998).

Las FM forman numerosas colaterales a lo largo del hilus que inervan varios tipos de células presentes en el subcampo hilar. Posteriormente proyectan hacia las dendritas apicales, y en algunos casos a las dendritas basales, de las neuronas piramidales en

CA3 (Claiborne *et al.*, 1986). Las proyecciones de las FM forman un entramado apretado paralelo a la capa de células piramidales, en el *stratum lucidum* de CA3. Región que corresponde aproximadamente a los primeros 100 μm después de la capa de neuronas piramidales en CA3 (*stratum pyramidale*). Las FM tienen terminales sinápticas especializadas conocidas como botones musgosos, con un diámetro aproximado de 4-10 μm . De los botones musgosos surge una serie de ramificaciones pequeñas llamadas extensiones filopodiales (0.5 - 2.0 μm). También, a lo largo de las fibras musgosas se encuentran otras zonas de contacto sináptico conocidas como botones *en passant* (3 - 5 μm). Las células musgosas constituyen el objetivo principal de los botones musgosos en el hilus. Las terminales filopodiales y botones *en passant* inervan selectivamente a interneuronas (Acsady *et al.*, 1998). En las sinapsis de FM-CA3, cada botón musgoso forma un complejo sináptico único con un proceso postsináptico igualmente complejo llamado excrescencia espinosa. Estos procesos, similares a espinas, se derivan de las dendritas de las neuronas piramidales de CA3. Las espinas dendríticas son entidades grandes y multilobuladas. Los botones musgosos pueden inervar a las neuronas piramidales de CA3 en múltiples segmentos dendríticos, ya sea de la misma neurona o de otras (Figura 6).

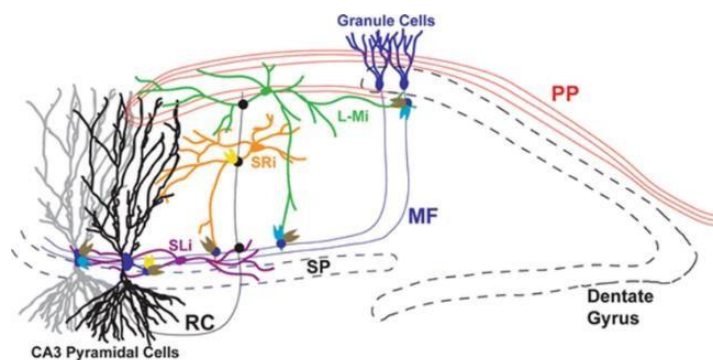


Figura 6. Las fibras musgosas tienen terminales filopodiales y botones *en passant* que forman conexiones con distintos tipos de interneuronas y con células musgosas, los botones musgosos hacen sinapsis con las excrescencias espinosas en las dendritas distales de las neuronas piramidales de CA3. Tomado de Cosgrove *et al.* (2011).

Las sinapsis que establecen las FM, en comparación con otras proyecciones dentro de la formación hipocampal, tienen grandes diferencias en muchas características morfológicas, farmacológicas y propiedades fisiológicas (Barrionuevo *et al.*, 2000). A lo largo de su paso por el hilus y el *stratum lucidum* las FM hacen un mayor número de contactos con interneuronas inhibitorias que con neuronas piramidales de CA3. Por lo que, la estimulación de las células granulares conduce a la activación de un grupo específico de neuronas piramidales de CA3 al mismo tiempo que inhibe las demás neuronas piramidales de CA3 (Andersen *et al.*, 1966). Por lo tanto, contrariamente a la predicción del modelo de circuito trisináptico del hipocampo, el efecto neto de la activación de las FM puede ser considerado inhibitorio sobre la red de CA3 (Acsady *et al.*, 1998). Esta complejidad morfológica y las propiedades sinápticas le confiere a las FM un rol predominante en la transformación de la información proveniente de la corteza entorrinal y su transmisión por el circuito hipocampal (Rollenhagen & Lübke 2010; Evstratova & Tóth 2014).

Transmisión glutamatérgica en las fibras musgosas.

A pesar de que las sinapsis pueden ser químicas o eléctricas, en esta tesis nos centraremos en las químicas, debido a que el trabajo se enfoca en las fibras musgosas. La transmisión sináptica química, puede dividirse en diferentes partes. La liberación del neurotransmisor desde una especialización presináptica, su difusión a través de la hendidura sináptica, activación de los receptores postsinápticos y posterior metabolización y recaptura.

Las terminales sinápticas de las FM o botones musgosos contienen numerosos sitios de liberación con miles de pequeñas vesículas claras y otras vesículas grandes de núcleo denso. Estos botones liberan glutamato. Sin embargo, se descubrió que las células granulares y sus fibras musgosas además poseen la maquinaria para la síntesis, vesiculación y liberación de GABA, es decir, que las células granulares expresan un fenotipo dual GABAérgico/glutamatergico (Gutiérrez, 2003). Sin

embargo, este fenotipo dual solo se expresa en edades tempranas, posiblemente con un papel en el neurodesarrollo y se desactiva junto con la maduración del sistema nervioso (Gutiérrez, 2003; 2005). Por otro lado, las fibras musgosas también liberan otros neurotransmisores como BDNF, dinorfina, ATP y colescistoquinina (McGinty *et al.*, 1983).

El glutamato es un aminoácido esencial y representa el neurotransmisor excitador por excelencia, además de ser el más abundante del SNC. El glutamato tiene la capacidad de mediar procesos de excitación rápida, pero también es capaz de modular la transmisión sináptica de manera gradual. Esta complejidad en la transmisión glutamatérgica se debe a que existen distintos tipos de receptores para el glutamato (Griego & Galván, 2019).

Receptores ionotrópicos de glutamato.

La excitación rápida está mediada por receptores ionotrópicos de glutamato (iGluR). Que son una serie de canales catiónicos sensibles a ligando. En el SNC de los mamíferos se expresan tres subfamilias de iGluR: los receptores de glutamato sensibles al N-metil-D-aspartato (NMDA-R), los receptores sensibles al ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA-R), expresados en sitios postsinápticos, y los sensibles a kainato (KR), que se encuentran, en su mayoría, expresados presinápticamente. Todos los miembros de iGluR están formados por proteínas con estructuras tetrámicas (Traynelis *et al.*, 2010). Los iGluR comparten una topología común, que consiste en un dominio N-terminal extracelular, un dominio de unión para el ligando, tres dominios transmembrana (M1, M3 y M4), un bucle de membrana orientado hacia el citoplasma (M2), y un dominio C-terminal intracelular (Figura 7).

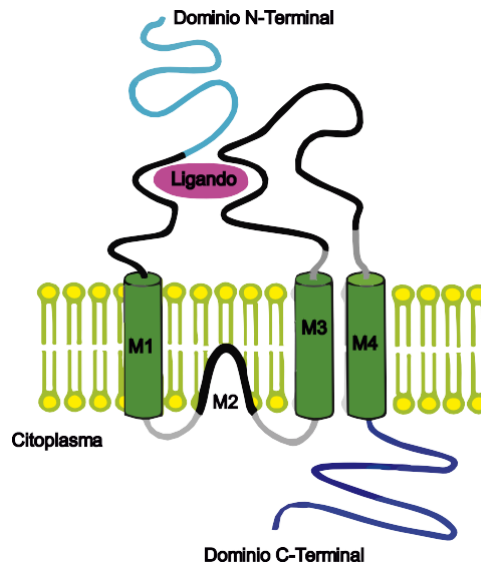


Figura 7. Estructura general compartida por los iGluR. Estos receptores contienen un dominio extracelular N-Terminal, un dominio de unión a ligando, tres dominios transmembranales (M1, M3, M4), un bucle de membrana M2 y un dominio intracelular C-Terminal.

El glutamato que se libera de los botones musgosos actúa sobre receptores postsinápticos de tipo AMPA y receptores de Kainato presentes en las excresencias espinosas de las neuronas piramidales de CA3 (Baude *et al.*, 1995). Esta sinapsis se caracteriza por tener una baja expresión de receptores NMDA (Monaghan & Cotman, 1985). Por lo que, el componente mayoritario que media las respuestas rápidas en las fibras musgosas está dado por receptores tipo AMPA.

Los receptores AMPA se componen de diferentes combinaciones de cuatro subunidades GluR (GluR1-4) (Hollmann *et al.*, 1989; Keinänen *et al.*, 1990; Hollmann & Heinemann, 1994; Nakanishi *et al.*, 1998; Ozawa *et al.*, 1998). En neuronas piramidales del hipocampo adulto (en roedores) son tetrámeros GluR1-2 o GluR2-3 (Wenthold *et al.*, 1996). El poro del receptor permite la entrada de Na^+ y salida de K^+ . Dependiendo de la composición de subunidades, estos receptores también pueden ser permeables a Ca^{2+} . Esta permeabilidad está determinada por la presencia o ausencia de un aminoácido (arginina, R) en un segmento de la subunidad GluR2 (Dingledine *et al.*, 1999). Los AMPAR requieren glutamato en concentraciones

aproximadas a 100 nM para abrirse. Esto le permite tener una cinética de unión rápida y una alta probabilidad de apertura. Por lo que estos receptores median respuestas rápidas (Mayer & Armstrong, 2004).

Receptores metabotrópicos de glutamato.

Además de los receptores ionotrópicos, el glutamato también puede activar receptores metabotrópicos (mGluR). Los mGluR, estructuralmente se caracterizan por tener 7 dominios transmembranales y su dominio intracelular se acopla a una proteína G (Figura 8). Como consecuencia de esta conformación, los mGluRs actúan a través de la activación de proteínas G y segundos mensajeros para modular la excitabilidad intrínseca y la transmisión sináptica de manera gradual (Griego & Galván, 2008). Los mGluR están estratégicamente posicionados en todo el eje axonal y somatodendrítico donde ejercen una regulación precisa de la transmisión sináptica (Knöpfel & Uusisaari, 2007). Debido a su segregación espacial y a que tienen una baja afinidad por el glutamato, se considera que los mGluR funcionan como autorreceptores que regulan de manera específica la fuerza de la transmisión excitadora (Petrália *et al.*, 1996; Scanziani *et al.*, 1997; Kamiya & Ozawa, 1999; Bradley *et al.*, 2000). Sin embargo, los mGluR también funcionan como heteroreceptores regulando la liberación de una variedad de neurotransmisores, tanto excitadores como inhibidores, aminoácidos, neuropéptidos y monoaminas (Cartmell & Schoepp, 2000).

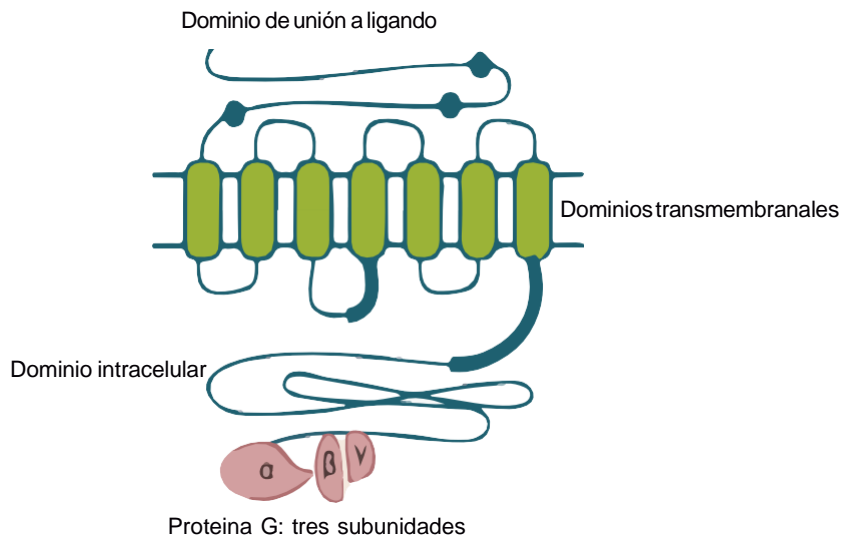


Figura 8. Estructura general de los mGluR. Estos receptores contienen un dominio extracelular N-Terminal, un dominio de unión a ligando, siete dominios transmembranales y un dominio intracelular acoplado a proteína G, esta última se compone de tres subunidades (α , β , y γ).

Los mGluR se clasifican en tres grupos (I a III). Esta clasificación se basa en la homología de su secuencia, mecanismos de transducción y farmacología (Conn & Pin, 1997; Anwyl, 1999). El grupo I (Gp I) comprende mGluR1 y mGluR5 que están vinculados a proteínas G del tipo G_q , y se expresan principalmente en sitios postsinápticos. El grupo II (Gp II) que engloba al mGluR2 y mGluR3 y el grupo III (Gp III) que comprende a mGluR4, mGluR6, mGluR7 y mGluR8 se acoplan a proteínas $G_{i/o}$ y se expresan a nivel pre y postsináptico.

Los miembros del Grupo I: mGluR1 y mGluR5, son receptores acoplados a proteínas $G_{q/11}$. Estas proteínas activan diversos efectores intracelulares. Así, la estimulación del grupo I desencadena una vía de señalización que implica la activación de fosfolipasa C (PLC) seguida por hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) para formar diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃). Estas moléculas funcionan como segundos mensajeros. Por un lado, el DAG activa la proteína cinasa C (PKC); por el otro lado, el IP₃ activa el receptor intracelular IP₃R y estimula la liberación de calcio

de las reservas intracelulares (Fagni *et al.*, 2000; Berridge, 2005). La activación de los mGluR1 y mGluR5 produce señales de calcio diferentes, dependiendo si se activa un receptor u otro. El mGluR1 induce un aumento transitorio en el calcio citosólico seguido de una meseta constante de Ca^{2+} . El mGluR5 desencadena una oscilación del calcio citosólico mediada por la movilización de Ca^{2+} de las reservas intracelulares (Kawabata *et al.*, 1998; Nash *et al.*, 2002). La activación selectiva de estos receptores define la fuerza, duración y el tipo de plasticidad sináptica que se desencadena (Barbara, 2002; Seo *et al.*, 2012; Abdul-Ghani *et al.*, 2017; Choi *et al.*, 2018).

En las sinapsis de FM – CA3 , a nivel postsináptico, se expresan ambos receptores, el mGluR1 y el mGluR5. Estos se encuentran alejados de la hendidura sináptica, en el espacio extrasináptico. Tienen poca participación en las respuestas rápidas glutamatérgicas del área CA3, sin embargo, se ha reportado que regulan la fuerza de la transmisión sináptica de las FM durante descargas de alta frecuencia (Miles & Poncer, 1993; Scanziani *et al.*, 1997; Baude *et al.*, 1993). Aunque esto aun es controversial. Dado que el grupo I de receptores también participa en mecanismos de depresión sináptica en varias áreas entre ellas las FM-CA3 (Suzuki & Okada, 2010).

Por otra parte, en la sinapsis FM – CA3, a nivel presináptico se expresa el receptor mGlu2. En el hipocampo, el ARNm que codifica mGluR2 está presente en las células granulares y está ausente en las células piramidales de CA3 (Tanabe *et al.*, 1992). Por lo tanto, las sinapsis de tipo Comisurales/Asociales no expresan este receptor. Razón por la cual, la sensibilidad a un agonista del mGluR2 como el DCG-IV, sirve como parámetro distintivo de identificación de una sinapsis FM – CA3. De esta manera, la activación farmacológica del mGluR2 se utiliza para verificar o confirmar el origen de las respuestas evocadas en el área de CA3 (Blümcke *et al.*, 1996; Petralia *et al.*, 1996).

Los mGluR del grupo II se acoplan a proteínas $G_{i/o}$. La proteína $G_{i/o}$ a su vez se acopla negativamente a adenilato ciclasa (AC). La AC forma parte de una cascada de señalización la cual desencadena la producción de AMPc. Un segundo mensajero que

juega un papel central en la liberación de neurotransmisores. Los botones musgosos contienen gran cantidad de AC (Weisskopf *et al.*, 1994). Además, el grupo II de mGluR también está acoplado negativamente a los canales de calcio de tipo N (Ikeda *et al.*, 1995). En consecuencia, se ha postulado que la activación del mGluR2 reduce la entrada de calcio y, por lo tanto, la liberación de neurotransmisores (Kamiya *et al.*, 1996). Así, la función principal de los mGluR del grupo II es reducir la liberación de glutamato, mediando la transmisión de la excitación rápida. De modo que, la activación de los mGluR del grupo II ejerce un efecto negativo sobre la fuerza de la transmisión sináptica. Su activación inhibe la transmisión sináptica en la sinapsis FM – CA3 (Kamiya *et al.*, 1996) y con menor potencia, también puede inhibir la transmisión en interneuronas de CA3 (Toth *et al.*, 2000; Alle *et al.*, 2001; Galván *et al.*, 2008). De manera interesante, estos receptores también participan en los mecanismos de depresión sináptica en las sinapsis FM – CA3 (Kobayashi *et al.*, 1996).

Hasta este punto, se ha resaltado que tanto el grupo I como el grupo II de mGluR, modulan la transmisión sináptica de la sinapsis FM – CA3. Por lo que, ahora es importante explicar a detalle estos procesos y como se lleva a cabo el estudio de fenómenos como la “plasticidad” en las fibras musgosas.

Plasticidad sináptica en las fibras musgosas.

La plasticidad sináptica se define como la capacidad que tienen las sinapsis para modificar su organización estructural y funcional ante los estímulos del entorno. En particular, las sinapsis responden mediante aumentos o decrementos en su eficacia. Existen múltiples formas de plasticidad dependientes de la actividad fisiológica. Por lo que los cambios en la eficacia sináptica son dependientes del número y duración de estímulos recibidos. Además, este proceso es modulado dinámicamente por la actividad pre- y postsináptica.

La modulación sináptica ha sido estudiada con diversos modelos, entre los que se incluye el modelo propuesto por Donald Hebb (1949). La idea propuesta por Hebb

conocida como *plasticidad Hebbiana* dicta que la eficacia sináptica aumenta si hay un efecto de causalidad entre las neuronas que forman la sinapsis. Es decir, solo si las dos neuronas se activan de manera simultánea se produce un incremento en la eficacia sináptica. Caso opuesto, la activación de una sola neurona produce depresión sináptica. En este modelo la sinapsis J_{ij} que conecta la neurona j con la neurona i , depende solo de la actividad de estas dos neuronas y no del estado de otras neuronas en la misma red. Así la dinámica de la sinapsis depende solo de tres variables: V_i , V_j y J_{ij} o sea $J_{ij} = F(J_{ij}; V_i, V_j)$, donde V es la frecuencia de disparo. Como se busca una relación causal entre la actividad de estas dos neuronas se introduce un término de correlación $v_i v_j$; y la ecuación final que define la regla de Hebb queda así:

$$\frac{dJ_{ij}}{dt} = -\frac{J_{ij}}{r} + \lambda [V_i - \theta][V_j - \theta]$$

Donde se añade una variable de aprendizaje y se representa como λ y la constante de tiempo se denomina r . Esta ecuación postula que la eficacia aumenta cuando las dos neuronas tienen actividad por encima del umbral θ , mientras que disminuye si la actividad de las neuronas no está correlacionada, es decir que solo una está activa. Esta regla de plasticidad presenta varios inconvenientes. Por ejemplo, para evitar tasas de disparo muy altas o bajas, la corriente excitadora total que recibe la neurona debe ser regulable. Esto concepto es difícil de integrar en la ecuación previamente descrita si las sinapsis son modificadas de manera independiente con respecto a la otra.

Bienestock, Cooper y Munro (1982) sugirieron un mecanismo que ayuda a lidiar con los inconvenientes no resueltos por el modelo de Hebb. El modelo propuesto por estos investigadores es conocido como modelo BMC. Este modelo postula que la actividad presináptica y postsináptica correlacionadas, evocan potenciación cuando la tasa de disparo postsináptica está por encima de cierto valor umbral (θ_M) y produce depresión cuando está por debajo. Para que este modelo sea estable se necesita que este umbral sea variable, es decir que θ_M sea capaz de adaptarse como función de la actividad postsináptica promedio. Por ejemplo, el umbral aumenta si la neurona

postsináptica tiene mayor actividad, haciendo la potenciación más difícil de inducir y la depresión más fácil de inducir (Figura 9).

La ecuación general de este modelo es:

$$m_j(t) = \Phi(C, \theta_M) d_j$$

donde m_j representa la eficacia de la sinapsis; d_j representa la actividad presináptica; C representa la actividad postsináptica y θ_M es la función no lineal del promedio de la actividad celular.

Así $\theta_M = (C^2)$. Y variaciones en C cambian el valor del umbral de modificación θ_M como se observa en la figura 8:

$$\Phi(C) < 0 \text{ para } C < \theta_M \quad \text{ó} \quad \Phi(C) > 0 \text{ para } C > \theta_M$$

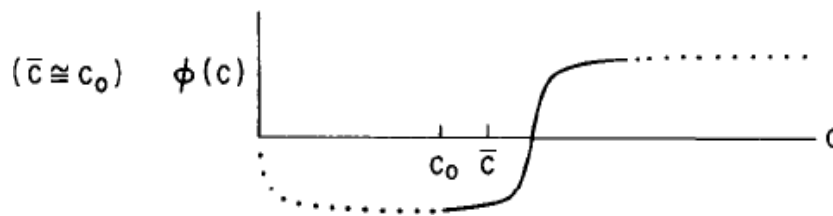


Figura 9. Modelo de plasticidad BMC, donde si la actividad postsináptica aumenta (C) el umbral de modificación θ_M también aumenta. Tomado de Bienestock, Copper & Munro (1982).

El modelo BMC ha sido estudiado en sinapsis donde los procesos de plasticidad son expresados en la región postsináptica, como es el caso de las respuestas mediadas por receptores NMDAR. En el hipocampo, Dudek y Bear (1992) utilizaron el modelo BMC para explicar los cambios plásticos en las sinapsis colaterales de Schaffer – CA1 (Figura 10). Sin embargo, en las sinapsis de FM-CA3 este modelo no ha sido

explorado. Es importante mencionar que, en este trabajo, se aplicó el modelo BMC para estudiar el cambio en el umbral de modificación θ_M durante la inducción de depresión a largo plazo, un proceso de plasticidad sináptica que es independiente a receptores NMDA y se induce de manera presináptica en las sinapsis FM-CA3. Nuestro trabajo exploró cambios en la inducción de LTD inducidos por AIM (ver más adelante).

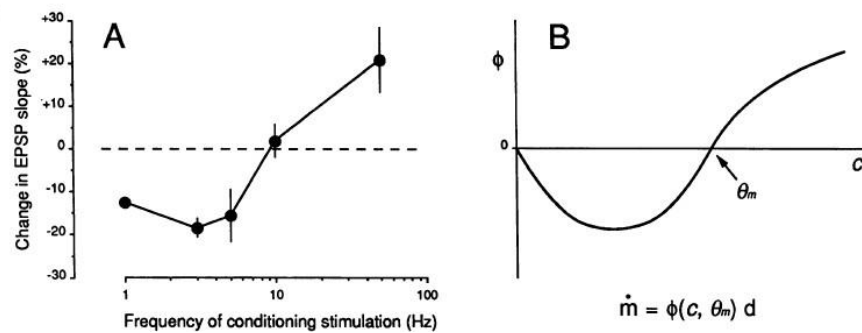


Figura 10. Comparación del modelo teórico y la experimentación en las sinapsis CS-CA1. (A) Efecto a los 30 minutos después de 900 pulsos administrados a varias frecuencias de estimulación (1,3,5,10 y 50 Hz); (media \pm SEM) $n=5$ para cada punto. (B) Función del umbral de modificación θ_M de Bienenstock- Munro- Cooper. Tomado de Dudek & Bear,1992.

Facilitación sináptica.

Como se mencionó anteriormente, las sinapsis responden mediante incrementos en su eficacia como lo son la facilitación y la potenciación. O bien mediante decrementos como depresión o atenuación en su eficacia. Las diferentes formas de plasticidad son clasificadas con base a su duración. Dentro de los procesos de plasticidad que se clasifican como de corto plazo (duración de milisegundos a minutos), se encuentran la facilitación, potenciación y depresión. (Zucker & Regehr,

2002). Los que se clasifican como de largo plazo, tienen una duración desde 30 minutos, horas, días, semanas e incluso años, estos fenómenos se conocen como potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD).

Los mecanismos celulares que median los diversos tipos de plasticidad (facilitación, potenciación, depresión) solo se han esclarecido parcialmente. A lo largo de la historia se han desarrollado distintas técnicas para su estudio. Entre las cuales se encuentran las técnicas electrofisiológicas, que se basan en las propiedades eléctricas de las neuronas. Gracias a estas técnicas se ha podido estudiar los fenómenos de plasticidad, tanto a corto como a largo plazo. Por ejemplo, si se aplica un par de estímulos eléctricos sobre una sinapsis, se generan dos respuestas sinápticas. Así, cuando el segundo pulso es suficientemente cercano en el tiempo al primero (≤ 1 segundo) se produce un aumento en la amplitud de la segunda respuesta (Johnston, 1947). A este fenómeno se le conoce como facilitación, específicamente facilitación por pulso pareado. La facilitación es una característica fundamental de las sinapsis con baja probabilidad de liberación (Jackman & Regehr, 2017). Si consideramos que la liberación de neurotransmisor depende de la existencia de vesículas ancladas y listas para ser liberadas en la zona activa, el aumento y/o disminución de la eficacia sináptica depende directamente de la fracción de vesículas liberadas (Stevens & Wang 1995; Debanne *et al.*, 1996; Waldeck *et al.*, 2000; Schneggenburger *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2004). Esto sugiere que las sinapsis facilitadas poseen mecanismos especializados que aumentan la liberación de neurotransmisores incluso cuando disminuye el conjunto de vesículas sinápticas disponibles (Zucker & Regehr, 2002).

Actualmente se conocen varios mecanismos relacionados con este fenómeno. El ejemplo más conocido es la facilitación acoplada a la exocitosis dependiente de calcio. En este, el estímulo eléctrico causa despolarización y activación de canales de Ca^{2+} que facilita su acumulación en la terminal presináptica. Sin embargo, la acumulación intra-terminal está limitada por las proteínas de unión a calcio, que amortiguan su elevación (Matthews and Dietrich, 2015; Neher, 1995; Smith & Augustine, 1988). En este modelo, la disponibilidad de estos amortiguadores

mantiene baja la probabilidad inicial de liberación al secuestrar el calcio entrante. Se ha postulado que una estimulación repetida satura este sistema de amortiguación, permitiendo el aumento de la concentración local de Ca^{2+} y el consecuente aumento de la liberación de neurotransmisor (Jackman & Regehr, 2017). Sin embargo, existen diversas proteínas en la terminal con distintas afinidades al calcio y que pueden tener un papel mayor en la facilitación. Entre ellas están la sinaptotagmina 7 y munc-18 y 13 (Südhof, 2012). Se ha propuesto que estos sensores adicionales facilitan la liberación de neurotransmisor actuando de manera conjunta con el principal sensor de calcio, la sinaptotagmina-1, favoreciendo la interacción molecular entre la membrana vesicular y la plasmática, disminuyendo el requerimiento energético de la fusión y exocitosis (Jackman & Regehr, 2017).

Potenciación a Corto Plazo.

La potenciación a corto plazo involucra dos fenómenos; la potenciación post-tetánica (PTP) y la aumentación (Zucker & Regehr, 2002; Fioravante & Regehr, 2011; Jackman & Regehr, 2017). Estas también son formas de facilitación, caracterizadas por un aumento sostenido de la respuesta evocada, que dura pocos minutos, y que se induce mediante un intenso periodo de activación sináptica.

Depresión sináptica en la sinapsis MF – CA3.

La depresión sináptica se define como un decremento en la eficacia sináptica que ocurre en respuesta a cierta actividad fisiológica o farmacológica (Christie *et al.*, 1994). Los mecanismos moleculares que subyacen a muchas formas de plasticidad a largo plazo, en particular la Depresión a largo plazo (LTD), se han estudiado a detalle en sinapsis glutamatérgicas (Bellone *et al.*, 2008).

En las fibras musgosas la LTD se induce presinápticamente e independientemente a los receptores NMDA (Kobayashi *et al.*, 1996). Se ha descrito que este tipo particular

de LTD que se puede inducir con estimulación de baja frecuencia (1-5 Hz). En las fibras musgosas este tipo de LTD es homosináptica y no requiere de la activación de receptores ionotrópicos presinápticos. Sino que, es dependiente del receptor metabotrópico glutamatérgico mGluR2 (Kobayashi *et al.*, 1996; Henze *et al.*, 2000). Por lo que este tipo de LTD se denomina mGluR-LTD. Inicialmente la mGluR-LTD recibió menos atención que la LTD dependiente del receptor de NMDA (Bortolotto *et al.*, 1999). Sin embargo, ahora es el foco de varias investigaciones, incluida esta tesis. La inducción de mGluR-LTD en las sinapsis FM-CA3 requiere la estimulación del mGluR2 aunado a un aumento transitorio en el calcio intraterminal. Y los en los animales que carecen de mGluR2 (knockout) no presentan este tipo de LTD (Kobayashi *et al.*, 1996; Yokoi *et al.*, 1996).

Por otro lado, también se ha reportado que la activación de los mGluRs del grupo I puede desencadenar LTD en varias áreas del cerebro, como en las sinapsis de las colaterales de Schafer- CA1 del hipocampo (Huber *et al.*, 2000; Bellone & Luscher, 2006). Dado que los mGluRs del grupo I se encuentra fuera de la densidad postsináptica (Lujan *et al.*, 1996), los receptores se activan cuando el glutamato se difunde más allá de la hendidura sináptica. Por lo tanto, los protocolos que inducen este tipo de LTD requieren trenes de alta frecuencia sostenidos de hasta 300 Hz (Harney *et al.*, 2006), ráfagas de varios trenes cortos a 66 Hz (Bellone & Luscher, 2005) o estimulación de baja frecuencia con pulsos pareados (Volk *et al.*, 2006). Otra alternativa para inducir este tipo de LTD es la inducción farmacológica, con agonistas de mGluR I como dihidroxifenilglicina (DHPG). Este tipo de protocolos farmacológicos han sido muy útiles para investigación de los mecanismos subyacentes a la LTD mediada por Gp I mGluR (Oliet *et al.*, 1997; Huber *et al.*, 2001; Xiao *et al.*, 2001). En las sinapsis de FM-CA3 la estimulación con DHPG (agonista Gp I) desencadena depresión sináptica (Suzuki & Okada, 2010), aunque no se sabe si esta depresión se sostiene a largo plazo.

En resumen, los receptores metabotrópicos tienen un papel importante en los procesos de plasticidad en las sinapsis FM – CA3. Sin embargo, estas sinapsis son muy

complejas y difíciles de estudiar. Además, los mecanismos moleculares que subyacen a estos procesos de plasticidad no se conocen por completo. Y más aún, no hay información acerca del papel que estos receptores puedan tener en los trastornos psiquiátricos.

Trasmisión mediada por mGluRs y trastornos psiquiátricos.

No se ha logrado comprender por completo que mecanismos moleculares y bioquímicos son los responsables de la aparición de síntomas semejantes a la esquizofrenia después de la activación inmune prenatal. Se ha reportado que existen disfunciones en el sistema GABAérgico (Wischhof *et al.*, 2015), el sistema serotoninérgico (5-HT) y glutamatérgico. De manera interesante, la literatura reporta que la acción de múltiples fármacos asociados a la fisiopatología de la esquizofrenia, podrían actuar sobre receptores metabotrópicos de glutamato (Aghajanian & Marek, 2000; Matosin *et al.*, 2014; Senter *et al.*, 2016).

Actualmente se asocia el sistema glutamatérgico con enfermedades como la esquizofrenia y depresión. Sin embargo, el estudio de los mGluR en los trastornos psiquiátricos, en humanos, se ha limitado a estudios postmortem. Se ha encontrado que en individuos con esquizofrenia hay bajos niveles de expresión de mGluR2 en áreas como la corteza prefrontal, cerebelo y giro dentado (González - Maeso *et al.*, 2008; Bullock *et al.*, 2008; Egan *et al.*, 2004). También, se reportó por Fatemi y cols. (2011) que en niños con autismo existen alteraciones en el mGluR5 en el vermis (una estructura pequeña con forma de gusano que se localiza entre los hemisferios del cerebelo).

Por otra parte, los únicos mGluRs estudiados en modelos animales de AIM son los del grupo II y su estudio se ha limitado a nivel molecular y conductual. Egan y cols. (2004) reportaron que existen polimorfismos del gen GMR3 que codifica para el receptor mGluR3 que podrían estar asociados con el incremento del riesgo a desarrollar esquizofrenia. Wischhof y colaboradores (2015) reportaron que en un modelo de LPS

[100 µg/Kg] inyectado vía intraperitoneal en el día gestacional (DG) 15 y 16, se observan conductas tipo ansiedad en las crías. Y al administrar antagonistas mGluR2/3 esto no se revierte. Poniendo en duda si los mGluRs del grupo II están participando en la aparición de este tipo de conductas.

Dado que en el GD diversos procesos de plasticidad dependen de mGluRs, es importante comprender las alteraciones electrofisiológicas de esta región utilizando el modelo de AIM.

Activación inmune materna y Giro dentado.

Diversos estudios han documentado alteraciones en el GD en respuesta a la activación inmune materna. Por ejemplo, Cui y cols. (2009) reportaron el efecto de la AIM sobre la proliferación celular en ratas. Estos autores demostraron que la inyección de LPS (100 µg/Kg i.p. en el día gestacional (DG) 15 y 16) causa una reducción en la proliferación de células marcadas con BrdU en GD durante el desarrollo del feto y en la etapa postnatal temprana (día postnatal 14 (P14)). Nouel y cols. (2012) analizaron las alteraciones en la expresión de GAD67 (enzima glutamato descarboxilasa) y la proteína Reelina en el GD (AIM inducida con 100 µg/Kg de LPS, i.p.). Los autores reportaron disminución en la inmunofluorescencia para la enzima GAD67 y reelina y disminución en el número de células positivas para GAD67. Wischhof y cols (2014) reportaron disminución en el porcentaje de mielinización del GD, además de una disminución en la marca para la proteína parvalbúmina en CA1. En este trabajo, los autores indujeron la activación inmune materna con 100 µg/Kg de LPS en el DG 15 y 16. Basta-Kaim y cols (2015) reportaron disminución en los niveles de la proteína de unión a calcio Parvalbúmina y GAD67 en las regiones del GD, CA3 y CA1 del hipocampo (AIM inducida con 1 mg/Kg LPS i.p.). Fernández de Cossío y cols. (2017) reportaron aumento en la densidad de procesos dendríticos o espinas en células granulares del GD (AIM inducida con 100 µg/Kg LPS i.p.). Además, encontraron una disminución en la expresión de ARNm para CX3CR1 en el hipocampo.

A pesar de los reportes descritos previamente, siguen sin conocerse posibles cambios en la fuerza de la transmisión sináptica y en los procesos de plasticidad neuronal del GD en respuesta a la AIM. Y más aún, se desconoce por completo si la AIM modifica la comunicación neuronal mediada por receptores metabotrópicos de glutamato en la sinapsis FM – CA3.

JUSTIFICACIÓN.

La AIM es un factor de riesgo para el desarrollo de alteraciones celulares que mimetizan a las observadas en ciertos padecimientos psiquiátricos y diversos reportes coinciden en que el cerebro de individuos con trastornos psiquiátricos presenta alteraciones en la expresión de mGluRs (Ohshima *et al.*, 1996; Asaka *et al.*, 2006; Auerbach *et al.*, 2011; Senter *et al.*, 2016). Dado que los mGluRs ejercen un fuerte control sobre la plasticidad neuronal, en esta tesis se estudió si la AIM altera la plasticidad sináptica modulada por mGluRs en la sinapsis FM – CA3 del hipocampo. La identificación de alteraciones inducidas por AIM puede ayudar a entender el tipo de modificaciones sinápticas que experimenta el cerebro humano que sufrió infección prenatal y desarrolló un padecimiento psiquiátrico.

HIPOTESIS.

Los animales expuestos a la AIM durante su desarrollo prenatal presentarán deterioro en los procesos de plasticidad sináptica en los que participan los receptores metabotrópicos de glutamato en las sinapsis fibra musgosa-CA3.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Identificar un aumento o disminución en la fuerza sináptica, facilitación, y en la

depresión a largo plazo mediada por mGluR's en la región compuesta por el giro dentado y área CA3 como consecuencia de la activación inmune materna.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- Obtener y replicar las respuestas electrofisiológicas de la sinapsis FM – CA3 como las reportadas previamente en la literatura (inducción de depresión sináptica a largo plazo; curvas de entrada-salida (I-O), facilitación por frecuencia de estimulación y por pulso pareado. Y compararlas con las respuestas evocadas en animales expuestos a AIM durante su desarrollo prenatal.
- Determinar si la activación de los receptores metabotrópicos del grupo I (mGluR1 y mGluR5) con el agonista DHPG, induce plasticidad a largo plazo en la sinapsis FM – CA3.
- Diseñar farmacológicamente la participación individual de los receptores mGluR1 y mGluR5 en los procesos de plasticidad en la sinapsis FM – CA3, mediante el uso de los antagonistas selectivos LY367385 y MPEP.
- Determinar si la AIM modifica los procesos de plasticidad mediados por los receptores metabotrópicos del grupo I.
- Determinar si la sensibilidad de los receptores metabotrópicos de glutamato mGluR2 es similar en animales control y en los expuestos a AIM durante su desarrollo prenatal.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Modelo de activación inmune materna.

Para el modelo de AIM, se utilizaron ratas Sprague Dawley (SD) hembras y machos expertos de la misma sepa provenientes del bioterio del Cinvestav (sede sur). Los animales se dejaron en cajas de policarbonato de 40 x 60 cm, 4 por caja, con ciclos de luz oscuridad invertidos de 12 hrs. Las ratas tuvieron acceso a agua y comida *ad libitum*. Se tomaron las hembras que tuvieran un peso de 240-260 g. Fueron cicladas mediante frotis vaginal. Cuando se encontraron en la fase de estro o proestro tardío se cambiaron a una caja individual junto a un macho experto. Se dejó a la hembra por un día y una noche con el macho y se corroboró que estuvieran preñadas mediante frotis vaginal. La presencia de espermatozoides en la cavidad vaginal se tomó como el día gestacional cero (DGO). En el día 15 y 16 de gestación se administró una dosis de LPS 100 µg / kg; vía intraperitoneal (i.p.) por día. Se hizo un grupo control manipulado, donde a las madres se les administró solución salina en los días gestacionales 15 y 16.

Se obtuvieron las crías de las madres control y con administración de LPS. Cuando las crías llegaron a la edad de cuatro a cinco semanas fueron sacrificadas, para su posterior estudio, con anestesia intraperitoneal de pentobarbital sódico (60 mg / kg) se sacrificaron por decapitación. Se extrajo el cerebro y los hemisferios cerebrales fueron separados. Posteriormente se fijaron en la plataforma de un vibratomo (Leica VT1000S). Se obtuvieron rebanadas sagitales del hipocampo de 370 µm de grosor. Estas rebanadas fueron incubadas en una solución de recuperación (NaCl [125 mM]; KCl [2.5 mM]; NaH₂PO₄ [2 mM]; NaHCO₃ 25 [mM]; glucosa [10 mM]; CaCl₂ [1 mM] y MgCl₂ [4 mM]) y se mantuvieron con gas carbógeno (95% O₂ / 5% CO₂) constante y temperatura (34 ± 2 °C) durante 30 minutos, seguidos de 90 minutos a temperatura ambiente para su estabilización.

Registros electrofisiológicos.

Concluido los 90 minutos tomados como tiempo de estabilización, se realizaron los registros electrofisiológicos de campo. Las rebanadas se transfirieron a una cámara de registro donde se perfundieron con líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa) con la siguiente composición: NaCl [125 mM]; KCl [2.5 mM]; Na₂HPO₄ [1.25 mM]; NaHCO₃ [25 mM]; CaCl₂ [2 mM]; MgCl₂ [2 mM]; glucosa [10 mM]. La perfusión fue a velocidad constante de 2 mL/min, a temperatura controlada (31±1 °C) y con gas carbógeno continuo (95 % O₂ / 5 % CO₂) durante todo el experimento.

Se empleó un electrodo bipolar compuesto por dos alambres de nicromo con recubierta aislante de 50 µm de grosor, un estimulador Master-8 (AMPI Tech), una unidad de aislamiento (A365, World Precision Instruments) y un amplificador Dagan BVC-700A acoplado a un "headstage" con una ganancia adicional de 100 X para la visualización de las respuestas de campo (fEPSP's). Las respuestas electrofisiológicas fueron grabadas mediante un software de adquisición escrito en LabView 7.0 (National Instruments). Durante los registros, el ruido eléctrico (50/60 Hz) se eliminó con un filtro externo (Humbug; Quest Scientific). Los registros extracelulares se obtuvieron de la región CA3, colocando un electrodo de estimulación en la zona del hilus del Giro dentado para evocar potenciales postsinápticos excitadores de campo (fEPSP). Estos registros se hicieron con una pipeta de borosilicato con una resistencia de 1.3 MΩ. Esta se llenó con una solución de NaCl 3M y se colocó sistemáticamente en el *stratum lucidum* del área CA3b en todos los experimentos.

Los fenómenos de plasticidad a corto plazo se analizaron con curvas de entrada-salida (E-S), de espigas poblacionales (EP) y de potenciales postsinápticos excitadores de campo de las fibras musgosas (MF - fEPSP) con aumentos de corriente de 10 µA, de 0-100 µA. Adicionalmente se analizó la relación entre la salva aferente y el MF - fEPSP tomando las amplitudes de los MF-fEPSP obtenidos de las curvas E-S.

Se analizó la facilitación por frecuencia de estimulación. Esto se hizo estimulando durante 10 min a 0.06 Hz, lo cual se tomó como la respuesta basal. Pasados los 10

min de respuesta basal, se aumentó la frecuencia de estimulación a 1 Hz durante 2.5 min. Se midió la facilitación del fEPSP con base en el aumento de la amplitud en la respuesta con respecto a su registro basal. También se evaluó la facilitación por pulso pareado. Para esto se aplicaron dos pulsos eléctricos con intervalo inter-estímulo de 60 ms. Se midió la facilitación del fEPSP con base en el aumento de la amplitud en la respuesta del segundo pulso con respecto al primer pulso.

La depresión a largo plazo se analizó con dos protocolos diferentes. En el primero, se aplicó un protocolo de estimulación eléctrica. Se grabó una respuesta basal a 0.06 Hz durante 20 minutos y posterior a esto se aplicó estimulación a baja frecuencia (900 pulsos a 3 Hz) durante 5 min. Luego la frecuencia de estimulación se regresó a 0.06 Hz, y se registró la respuesta durante 90 minutos. El segundo protocolo consistió en estimulación farmacológica del Gp I de mGluR para evocar depresión sináptica. De igual manera se tomó un registro basal de 20 minutos y después se perfundió la rebanada con DHPG (agonista mGluR I) durante 15 minutos. Luego de esto, se volvió a perfundir la rebanada con el LCRA y se registró la respuesta durante 90 min. La frecuencia de estimulación durante todo el experimento fue de 0.06 Hz.

Los pulsos de corriente para todos los experimentos tuvieron una duración de 80 - 150 μ seg. Al final de cada experimento se perfundió Ácido 1R,2R)-3-[(S)-amino(carboxy)metil]ciclopropano-1,2-dicarboxílico ó DCG - IV [5 μ M] (agonista mGluR2) para corroborar que los registros fueron de FM-CA3.

Fármacos.

Los fármacos utilizados de Merk (Sigma Aldrich) se enlistan a continuación: DHPG-D3689 (agonista del Gp I de mGluR), MPEP- 219911-35-0 (antagonista del mGluR5) y NMDG-6284-40-8 (bloqueador de los canales de sodio). Los fármacos que fueron utilizados de TOCRIS: DCG IV Cat. No. 0975/1 (agonista del mGluR2), LY 456236 Cat. No. 2390/10 (antagonista del mGluR1).

Análisis estadísticos.

Cada grupo de experimentos en las rebanadas que provienen del modelo animal de activación inmune materna se contrastó contra su grupo control y se sometió a pruebas de normalidad. Se aplicó una prueba de t de Student para datos no pareados o ANOVA de una vía dependiendo el caso, y se tomó como diferencia estadísticamente significativa aquellos que tuvieron una $P < 0.05$.

Modelo BMC.

Este modelo postula que la actividad presináptica y postsináptica correlacionadas, evocan potenciación cuando la tasa de disparo postsináptica está por encima de cierto valor umbral (Umbral de modificación θ_M) y produce depresión cuando está por debajo. El valor del umbral de modificación no es fijo, sino que varía como una función no lineal de la actividad media de la neurona postsináptica.

Dado que los registros de campo miden la actividad “promedio” de la sinapsis, la regla BMC se acopló experimentalmente mediante curvas de umbral de respuesta. Una vez aislado el MF – fEPSP, se aplicaron 900 pulsos cambiando la frecuencia de estimulación para cada punto de la curva. Se aplicaron las frecuencias de 1 Hz, 3 Hz, 5 Hz, 10 Hz y 50 Hz. Se midió el cambio en la pendiente del MF – fEPSP en cada frecuencia de estimulación, con respecto a su propia respuesta basal. Bajo el supuesto de que el umbral de modificación varía de manera no lineal, a los datos obtenidos de manera experimental se les aplicó una regresión no lineal y se ajustó la curva con una ecuación polinomial cuadrática mediante el uso del programa GraphPad Prims 8.0.1.

RESULTADOS.

Se cuantificó el número de crías por camada. En condición control las ratas tuvieron 15 ± 3 crías ($n = 4$); mientras que las ratas expuestas a LPS [$100 \mu\text{g} / \text{kg}$] en los días gestacionales 15 y 16 tuvieron en promedio 9 ± 1 crías ($n = 4$) (t de Student para datos no pareados, $P < 0.001$). Por lo tanto, el primer efecto observado de la AIM sobre el desarrollo embrionario es la disminución del número de crías por camada.

Se analizó si existían cambios fenotípicos observables entre los grupos de crías como disminución en el peso, tamaño y caída del pelaje, que pudieran ser asociados con la activación inmune materna. No se encontraron diferencias fenotípicas en las ratas con activación inmune materna con respecto a el grupo control en las cuatro camadas analizadas, solo los machos ($n = 11$ control; $n = 11$ AIM).

Para los registros electrofisiológicos de campo, los experimentos se realizaron en rebanadas frescas de cerebro de ratas macho obtenidas a partir del día postnatal 30 (DP 30) tanto del grupo con control (tratados con solución salina) como del grupo con activación inmune materna (LPS $100 \mu\text{g}/\text{kg}$, DG 15 / 16).

Se registraron un total de 48 rebanadas dorsales de hipocampo (control y AIM). Los experimentos se restringieron a esta región, dada su relevancia en el aprendizaje y su asociación con trastornos psiquiátricos (Moser et al., 1995). Con base en la distribución laminar de las capas del hipocampo, se posicionaron los electrodos de estimulación y la pipeta de registro entre el hilus del GD y el *stratum lucidum* de CA3b, respectivamente. Estas capas corresponden a la ubicación de las fibras musgosas y las sinapsis que establecen con las neuronas piramidales de CA3 del hipocampo de rata (Claiborne et al., 1993). La selección posterior de las respuestas electrofisiológicas incluidas en este trabajo, se realizó con base en las características del MF - fEPSP obtenido en los registros y los datos previamente reportados en el laboratorio para esta sinapsis; estos parámetros incluyen: latencia del MF - fEPSP entre 2 y 5 ms; facilitación por pulso pareado ≥ 2 cuando se aplicó un estímulo con un intervalo de 60 ms; incremento en la respuesta sináptica al incrementar la frecuencia

de estimulación (facilitación por frecuencia de estimulación, Salin et al., 1989) y finalmente, depresión de la respuesta sináptica al aplicar el agonista de los receptores metabotrópicos de glutamato del grupo II, DCG-IV (Villanueva-Castillo, 2016).

La activación inmune materna modifica la fuerza sináptica en las sinapsis FM-CA3 del hipocampo en las ratas.

El primer parámetro a evaluar fue si la AIM modifica la fuerza de la comunicación neuronal en la región compuesta por las FM y CA3. Para lograr este fin se realizaron curvas de entrada – salida (E-S) tanto de espigas poblacionales (EP ó potenciales de acción poblacionales) como de potenciales postsinápticos excitatorios de campo evocados en las fibras musgosas (MF - fEPSP). Estas curvas nos permiten determinar de manera general, posibles cambios en la excitabilidad y capacidad de respuesta neuronal en la región de estudio.

Una vez obtenida una espiga poblacional (colocando la pipeta de registro sobre los somas de las neuronas de CA3, en el *stratum pyramidale*), se permitió la estabilización de los registros por lo menos 10 minutos antes de comenzar el experimento. Transcurrido este tiempo, se aplicaron pulsos de corriente (incremento de 10 μ A) y duración similar (100 μ s). Comparado con las rebanadas control, se encontró que la activación inmune materna provoca una disminución en la amplitud máxima de la espiga poblacional (Amplitud máxima en condición control = 16 ± 2.88 mV; n = 5 rebanadas / 5 animales. Amplitud máxima en condición de activación inmune materna = 5 ± 2.22 mV; n = 5 rebanadas / 5 animales; P < 0.001; t de Student para datos no pareados; Figura 11 A y 11 B, respectivamente).

La latencia de las espigas poblacionales (tiempo transcurrido entre estimulación eléctrica e inicio del potencial de acción poblacional) fue comparada utilizando estimulaciones eléctricas de 10 y 100 μ A. No se observaron diferencias significativas entre las latencias. En condición control y con 10 μ A de estimulación, la latencia

promedio de la espiga poblacional fue 0.9 ± 0.4 ms y con $100 \mu\text{A}$ fue 0.175 ± 0.04 ms ($n = 5$ rebanadas / 5 animales) (Figura 11 A, panel superior). En rebanadas provenientes de los animales con activación inmune materna la latencia con $10 \mu\text{A}$ fue de 0.62 ± 0.0629 y con $100 \mu\text{A}$ fue de 0.52 ± 0.04 ms ($n = 5$ rebanadas / 5 animales; $P > 0.05$ t de Student para datos no pareados; Figura 11 B, panel superior).

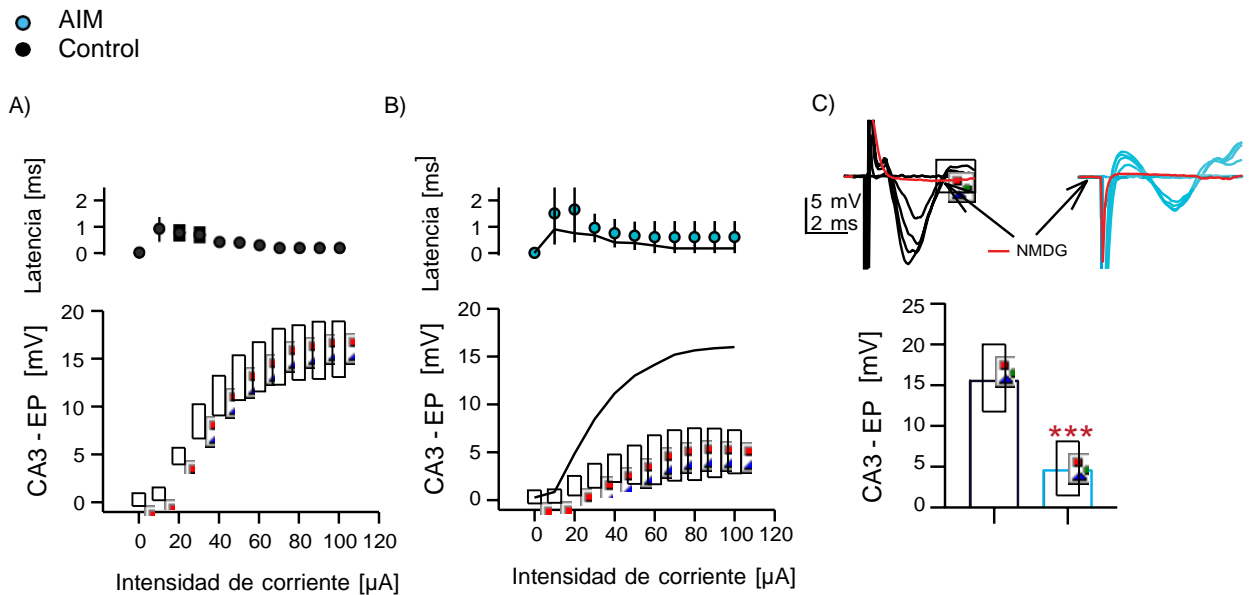


Figura 11. La activación inmune materna disminuye la excitabilidad de las neuronas piramidales de CA3. A) Panel superior: latencia entre el estímulo eléctrico y el inicio de la respuesta, en condiciones control. En intensidad de corriente de $10 \mu\text{A}$, la latencia tuvo un valor promedio de 0.9 ± 0.4021 ms; en intensidad de $100 \mu\text{A}$ la latencia fue de 0.175 ± 0.0479 ms ($n = 5$ rebanadas / 5 animales). Panel inferior: Curva E-S de EP de CA3b. Donde la Amplitud Máxima en condición control es $= 16 \pm 2.88$ mV; $n = 5$ rebanadas / 5 animales B) Panel superior: latencia entre el estímulo eléctrico y el inicio de la respuesta, en condiciones de AIM. Latencia $= 0.62 \pm 0.0629$ ms en la intensidad de $10 \mu\text{A}$; Latencia $= 0.52 \pm 0.0479$ ms en intensidad de $100 \mu\text{A}$ ($n = 5$ rebanadas / 5 animales; $P < 0.0001$; t de Student para datos no pareados). Panel inferior: Curva E-S de EP de CA3b, en condiciones de AIM. Amplitud Máxima $= 5 \pm 2.22$ mV; $n = 5$ rebanadas / 5 animales C) Panel superior: Trazos representativos de espigas poblacionales obtenidos de curvas E-S: en negro los obtenidos de animales control y en azul los correspondientes a animales expuestos prenatalmente a AIM. Al final de cada experimento se perfundió la rebanada con NMDG (trazo rojo), para comprobar que el registro era de espiga poblacional. Panel inferior: Media \pm error estándar de la respuesta máxima obtenida de las curvas E-S ($n=5$): control $= 16 \pm 2.88$ mV; AIM $= 5.07 \pm 2.22$ mV. t de Student para datos no pareados (***) $P < 0.001$.

De manera consistente con los resultados previos (disminución en la amplitud de las espigas poblacionales en el grupo con activación inmune materna) la curva E-S construida a con las respuestas sinápticas reveló una disminución en la amplitud de la respuesta máxima del FM – fEPSP del grupo con AIM (Amplitud del FM - fEPSP en condición control = 6.17 ± 0.4921 mV; Amplitud del FM - fEPSP en animales expuestos a AIM = 4.3 ± 1.0875 mV; n= 4 rebanadas / 4 animales; $P < 0.05$, t de Student para datos no pareados; Figura 12A-C).

Al analizar la latencia en las diferentes intensidades de corriente se encontró que en condiciones control, en intensidad de corriente de $10 \mu\text{A}$, la latencia fue de 2.3 ± 1.0615 ms, mientras que en intensidad de $100 \mu\text{A}$ la latencia fue de 2.27 ± 0.0479 ms (n = 5 rebanadas / 5 animales). En las rebanadas de los animales expuestos a AIM la latencia fue de 2.325 ± 0.685 ms (intensidad de $10 \mu\text{A}$); mientras que, en la intensidad de $100 \mu\text{A}$ la latencia se vio disminuida de manera estadísticamente significativa con un valor de 1.45 ± 0.9983 ms (n = 5 rebanadas / 5 animales; $P < 0.0001$; t de Student para datos no pareados; Figura 12 B).

Una ventaja de los registros extracelulares es la posibilidad de detectar potenciales de acción viajando por las fibras presinápticas. Estos eventos aparecen en el registro electrofisiológico como una deflexión negativa, rápida y de menor amplitud previa al MF - fEPSP. A esta respuesta se le conoce como salva aferente o *fiber volley*. En condiciones fisiológicas, la salva aferente es proporcional a la amplitud del MF - fEPSP y esta relación se altera en condiciones patológicas (Hernandez-Frausto et al., 2019). Andersen (1969) demostró que el EPSP hipocampal crece de manera proporcional a la amplitud de la salva aferente, manteniendo una relación lineal. El análisis de la proporción entre la salva aferente y el MF - fEPSP muestra que en condiciones control existe una relación lineal, tal que, al hacer el ajuste matemático, se obtiene un valor de $r = 0.698$ (n = 4 rebanadas/ 4 animales). En contraste, el grupo de AIM tuvo un valor de $r = 0.454$ (n = 4 rebanadas / 4 animales). Estos resultados sugieren que la activación inmune materna genera una desincronización entre estímulo presináptico y respuesta postsináptica que se refleja en la pérdida de esta relación lineal.

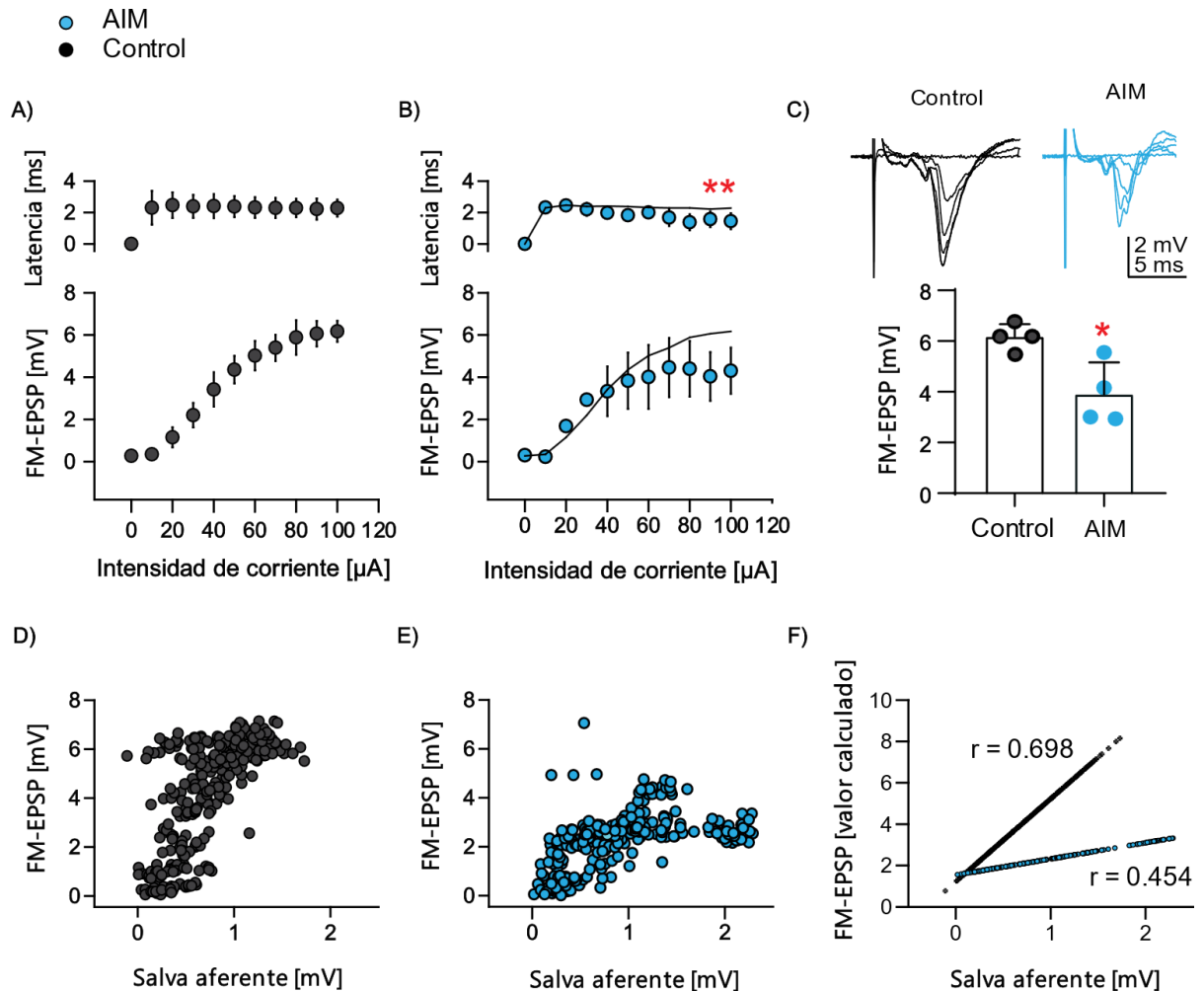


Figura 12. La AIM disminuye la fuerza sináptica de la sinapsis fibra musgosa-CA3. A) Panel superior: Latencia entre el término del estímulo eléctrico y el inicio de la respuesta sináptica. En condiciones control, en intensidad de corriente de 10 μA , latencia = 2.3 ± 1.0615 ms, en intensidad de 100 μA latencia = 2.27 ± 0.0479 ms ($n = 5$ rebanadas / 5 animales). Panel inferior: Curva E-S. Al estimular sobre el hilus en el giro dentado y registrar en el *stratum lucidum* de CA3b; Amplitud máxima = 6.17 ± 0.4921 mV. B) Panel superior: Latencia en condiciones de activación inmune materna, en intensidad de corriente de 10 μA , latencia = 2.325 ± 0.685 ms, en intensidad de 100 μA latencia = 1.45 ± 0.9983 ms ($n = 5$ rebanadas / 5 animales; t de Student para datos no pareados $P < 0.01$). Panel inferior: Curva E-S del grupo con AIM; Amplitud máxima = 4.3069 ± 1.0875 mV. C) Panel superior: Trazos representativos de fEPSP obtenidos de curvas E-S, en negro grupo control; en azul grupo expuesto a AIM. Panel inferior: Media \pm error estándar de la amplitud máxima obtenida de las curvas E-S ($n = 4$ rebanadas/ 4 animales, t de Student para datos no pareados $P < 0.05$) D) Grafica de dispersión, mostrando la relación entre la salva aferente y el FM - fEPSP del grupo control. E) Relación entre la salva aferente y el MF - fEPSP en el grupo con AIM. F) Análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados de la relación entre fiber volley y FM - fEPSP. Control: $r = 0.698$; AIM: $r = 0.454$.

La AIM disminuye la facilitación por frecuencia de estimulación y por pulso pareado en las sinapsis FM - CA3.

La sinapsis FM – CA3 se caracteriza por ser de baja probabilidad de liberación (Salin *et al.*, 1996), esta propiedad le permite tener una marcada facilitación obtenida al aumentar la frecuencia de estimulación eléctrica. En el panel A de la Figura 13, se observa que al aumentar la frecuencia de estimulación de 0.06 Hz a 1 Hz, en el grupo control, se obtiene en promedio una facilitación de $215.21 \pm 4.92 \%$ ($n = 4$ rebanadas / 4 animales). Sin embargo, en los animales con activación inmune materna (Fig. 13 B) la facilitación que se observa al aumentar la frecuencia a 1 Hz es significativamente menor (Fig. 13 B y C), con un valor promedio de $137.72 \pm 1.55 \%$ ($n= 4$ rebanadas / 4 animales t de Student para datos no pareados $P < 0.01$).

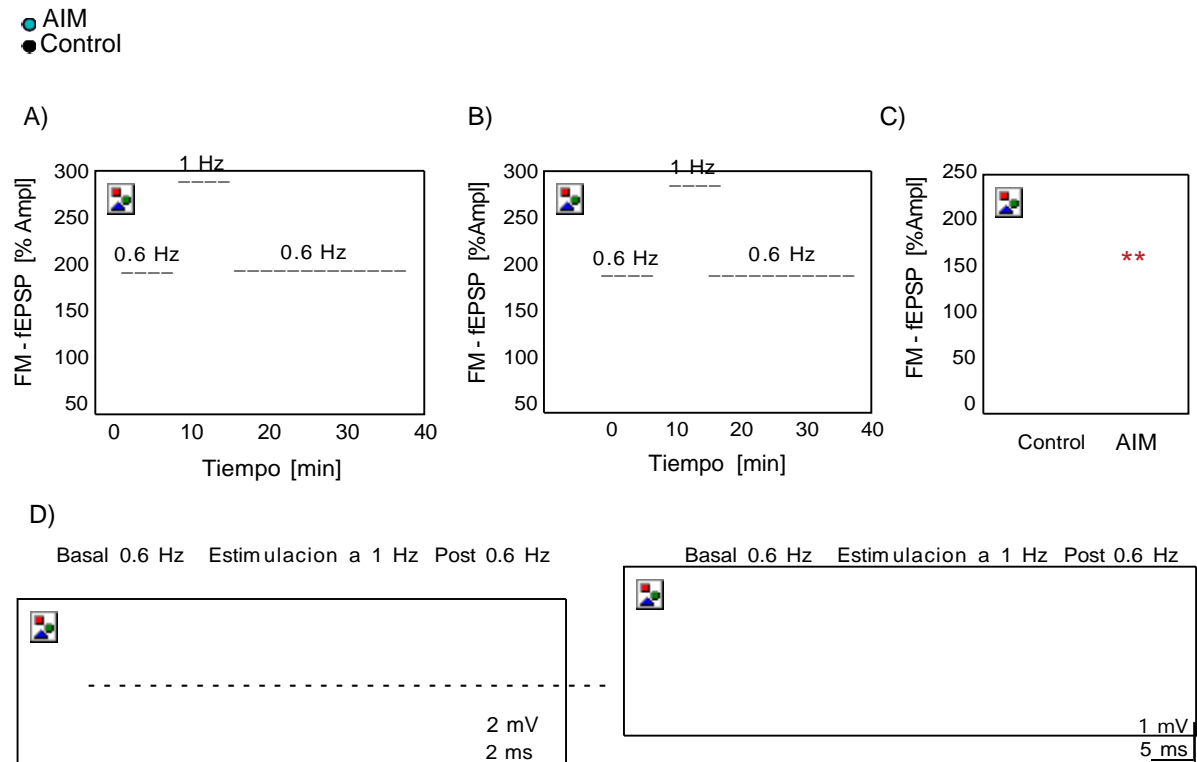


Figura 13. La activación inmune materna disminuye la facilitación por frecuencia de estimulación. A) Gráfica representativa, cada punto corresponde a la amplitud de una respuesta (normalizada) evocada al estimular sobre el hilus en el giro dentado y registrar en el *stratum lucidum* de CA3b; se estimuló durante diez minutos a una frecuencia de 0.06 Hz (esto se tomó como el estado basal) y después durante dos minutos y treinta segundos se

cambió la frecuencia de estimulación a 1 Hz. En estado control (círculos negros) se observa que al cambiar a una frecuencia de estimulación de 1 Hz existe una facilitación que llega en promedio de 215.21 ± 4.92 % (n = 4 rebanadas / 4 animales) con respecto a la respuesta basal. Cuando la frecuencia regresa nuevamente a 0.06 Hz la respuesta rápidamente regresa a su estado basal. B) En los animales con AIM (círculos azules) la facilitación es menor, estimulando con 1 Hz el valor es de 137.72 ± 1.55 % (n= 4 rebanadas / 4 animales) con respecto a su estado basal y cuando la frecuencia regresa a 0.06 Hz la respuesta permanece facilitada durante 20 minutos y luego se deprime. C) Media \pm error estándar de las respuestas máximas obtenidas de los experimentos de facilitación por frecuencia de estimulación (n=5); Control= 235.17 ± 19.57 ; AIM= 121.29 ± 31.62 . t de Student para datos no pareados, ** P < 0.01. D) Trazos representativos de fEPSP obtenidos de los experimentos de facilitación por frecuencia de estimulación, en negro control y en azul AIM.

Otra característica de las sinapsis FM – CA3 es su marcada facilitación por pulsos pareados. Alteraciones en esta proporción, sugieren alteraciones en la liberación de neurotransmisor. Se realizó un análisis entre la proporción del pulso pareado (Intervalo entre estímulos de 60 ms) en ambos grupos experimentales (Figura 14). Como se observa en la Figura 14 B, en el grupo control la proporción S2/S1 fue de 1.83 ± 0.086 . En el grupo con AIM, la proporción S2/S1 fue 1.11 ± 0.04 (n= 11 rebanadas / 11 animales, t de Student para datos no pareados P < 0.001). Estos resultados muestran que existe una disminución en la facilitación por pulso pareado en el grupo con activación inmune materna.

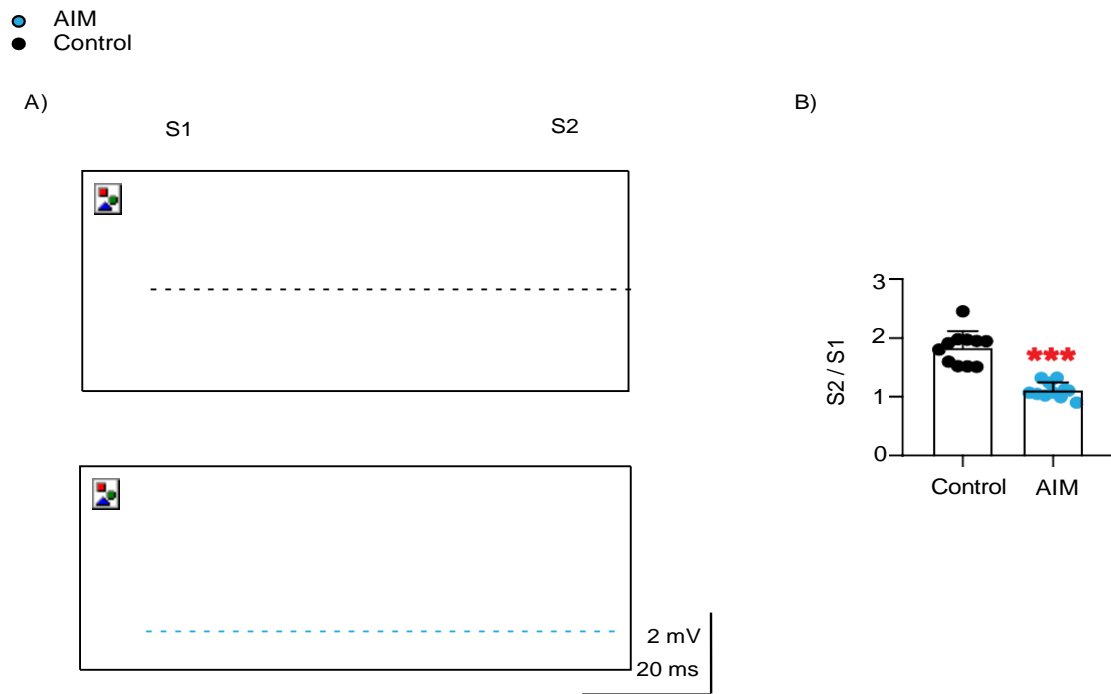


Figura 14. La activación inmune materna induce una disminución en la facilitación por pulso pareado. A) Trazos representativos correspondientes al control (negro) y con AIM (azul). Los trazos en gris representan datos no promediados. B) Análisis de la proporción de facilitación por pulso pareado en el estado basal control y con AIM. Media \pm error estándar (n=11 rebanadas / 11 animales): Control= 1.83 ± 0.086 ; AIM= 1.11 ± 0.04 . Se observa una disminución de la facilitación dada por pulso pareado en los animales expuestos a una activación inmune materna, y esta disminución en la facilitación es estadísticamente significativa, en la prueba t de Student para datos no pareados ***P <0.001.

La AIM no afecta la inducción de depresión a largo plazo (MF LTD) mediada por el receptor metabotrópico mGluR2.

En los siguientes experimentos se probaron las posibles alteraciones en la inducción y expresión de LTD en ratas expuestas a activación inmune materna. La LTD analizada en el presente trabajo esta mediada por la activación del receptor mGluR2 (Kobayashi, 2007).

Una vez que se obtuvo una respuesta estable de MF - fEPSP, se registró la actividad basal durante un periodo de 20 minutos. Inmediatamente después, se aplicó estimulación de baja frecuencia (LFS; 900 pulsos a 3 Hz; duración del estímulo $100 \pm 20 \mu\text{s}$). Tal como ya ha sido reportado en la literatura (Kobayashi *et al.*, 1996; Nicoll & Schmitz, 2005). El grupo control mostró depresión con una disminución en la pendiente del MF - fEPSP de $60.7 \pm 15.1 \%$ con respecto a la basal (Figura 15 A). Durante los siguientes minutos el MF - fEPSP se estabilizó y la disminución en la pendiente fue de $22.7 \pm 3.6 \%$. Esta depresión se mantuvo estable durante noventa minutos (Figura 15 A). Por otro lado, en el grupo con activación inmune materna se observó depresión sináptica y la disminución en la pendiente del MF - fEPSP fue de $11.3 \pm 10.1 \%$ con respecto a su basal. Durante los siguientes minutos de estabilización, la disminución de la pendiente fue de $22.92 \pm 11.08 \%$, y esta depresión se mantuvo durante los 90 minutos de experimentación (Fig. 16 B). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos al analizar los últimos 5 minutos del experimento (Fig. 15 D; $n = 4$ rebanadas/ 4 animales; t de Student para datos no pareados $P > 0.05$).

Al final de los experimentos se perfundió DCG-IV ($5 \mu\text{M}$) inhibiendo las respuestas sinápticas, y corroborando así que estas fueron evocadas en las fibras musgosas. En el grupo control la inhibición con respecto a la basal a los 10 min de perfusión fue de $98.89 \pm 1.91 \%$ (Figura 15 A). En el grupo con AIM la inhibición con respecto a la basal a los 10 min de perfusión fue de $97.79 \pm 7.2 \%$ (Figura 15 B). Ambos grupos muestran sensibilidad a DCGIV $> 90 \%$. No se observaron alteraciones en la inducción LTD causadas por activación inmune materna, a la edad de 4 semanas en las ratas (t de Student para datos no pareados; $P > 0.5$; $n = 4$ rebanadas / 4 animales).

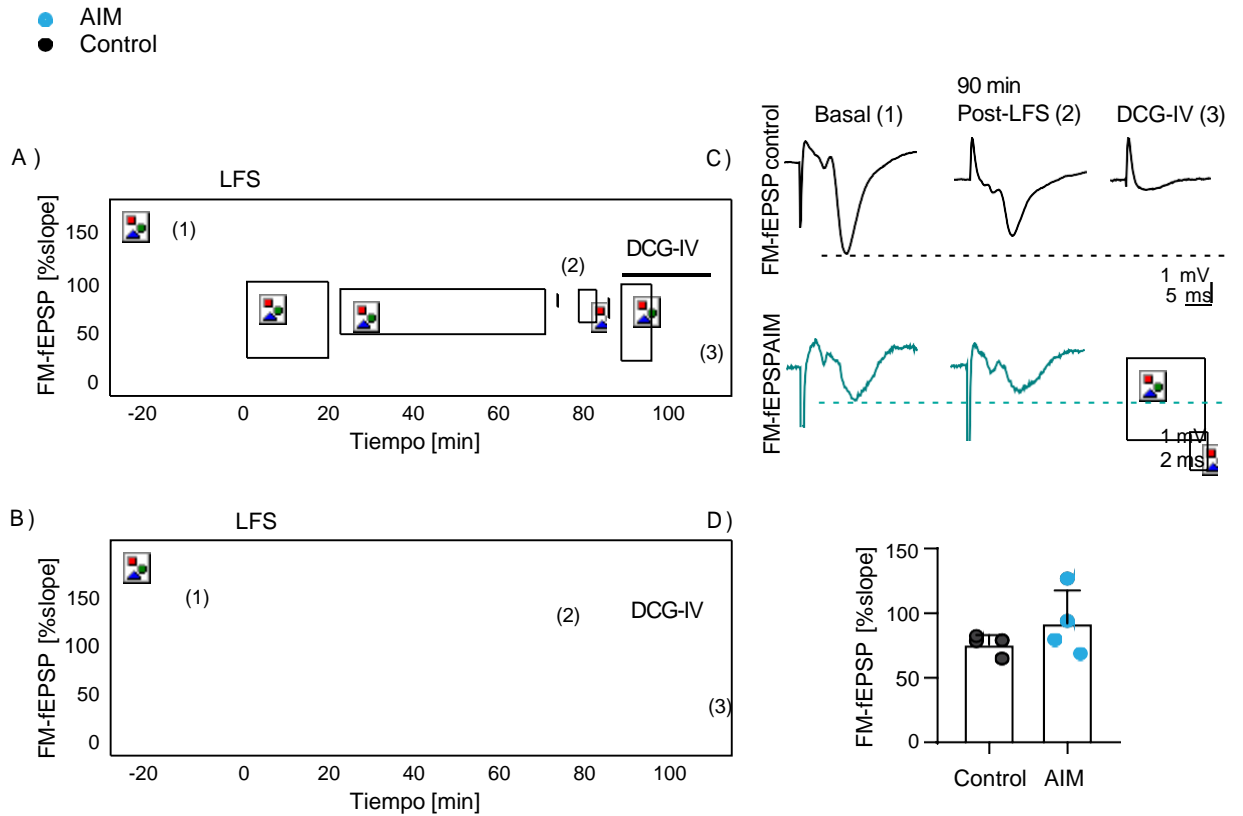


Figura 15. A la edad de 4 semanas no se ven alteraciones causadas por la AIM en la LTD. Las respuestas se evocaron al estimular en el hilus del GD y registrando en el *stratum lucidum* de CA3b, se hizo un registro basal durante 20 minutos y para evocar depresión a largo plazo se aplicaron 900 pulsos a 3 Hz. A) En el grupo control la depresión 1 minuto post LFS tuvo una disminución en la pendiente del fEPSP de 60.74 ± 15.11 % con respecto a la basal. La disminución en la pendiente a los 90 minutos post LFS fue de 22.67 ± 3.59 %. B) En el grupo con AIM la depresión 1 minuto post LFS tuvo una disminución en la pendiente del MF - fEPSP de 11.31 ± 10.13 % con respecto a la basal. La disminución en la pendiente a los 90 minutos post LFS fue de 22.92 ± 11.08 %. C) Trazos representativos del MF - fEPSP. En negro el control y en verde el de AIM. En ambos, el trazo 1 corresponde al promedio de 20 datos del estado basal, el segundo trazo corresponde a 20 datos promediados de la respuesta deprimida, y el tercer trazo representa el promedio de 20 datos de la respuesta inhibida después de aplicar DCGIV. Los trazos en gris corresponden a los 20 datos individuales. D) Promedio de los últimos 5 minutos del experimento, que corresponde a la respuesta deprimida a los 85 minutos después del protocolo de inducción (n=4); Media \pm error estándar (% sople): Control = 76.31 ± 3.03 ; AIM = 79.91 ± 3.28 . t de Student para datos no pareados. $P > 0.05$.

La AIM altera la inducción de LTD mediada por los receptores mGluR1/5 en la sinapsis FM – CA3.

El segundo tipo de depresión sináptica que se evaluó en la sinapsis FM – CA3, se evoca mediante la estimulación química el Gp I de receptores metabotrópicos de glutamato. Por lo que los siguientes experimentos se hicieron para determinar si la estimulación conjunta del mGluR1 y mGluR5 podía evocar depresión en la sinapsis FM – CA3.

Se obtuvo una respuesta estable de MF - fEPSP, y se registró su actividad basal por 20 minutos. Inmediatamente después, se perfundió el agonista de los mGluR1/5, DHPG [50 μ M] durante 15 minutos. Posteriormente se cambió a LCRa nuevamente y el registro continuó por 90 minutos adicionales. En condición control, el DHPG indujo depresión sináptica y disminuyó la pendiente del MF - fEPSP en 46.8 ± 23.9 % con respecto al valor basal (Figura 16 A). Este experimento confirma que la depresión sináptica inducida por la estimulación farmacológica de mGluRs es de largo plazo (n= 4 rebanadas / 4 animales).

Para determinar la contribución individual de los receptores mGluR1 y mGluR5, en otro grupo de experimentos se perfundió la rebanada con DHPG [50 μ M] en combinación con el antagonista del mGluR5 MPEP [100 μ M]. En presencia de MPEP, el DHPG no produjo depresión sináptica (porcentaje de depresión sináptica en presencia de DHPG + MPEP = 3.9 ± 29.8 en la pendiente; Figura 16 E). Se observó un incremento en la pendiente del MF EPSP de 8.14 ± 21.1 %. Y 90 minutos post lavado, el cambio en la pendiente fue de 0.47 ± 31.34 % (n= 4 rebanadas / 3 animales; Figura 16 B).

La estimulación, en presencia de DHPG y el antagonista de mGluR1 LY 456236 [100 μ M], produjo una depresión del MF - fEPSP de 42.55 ± 3.94 % a los 90 minutos de lavado (t de Student para datos no pareados; $P < 0.5$; n= 3 rebanadas / 3 animales; Figura 16 C). En conjunto, estos experimentos indican que se requiere la activación

del mGlu5 pero no el mGluR1 para inducir depresión sináptica a largo plazo en la sinapsis MF – CA3.

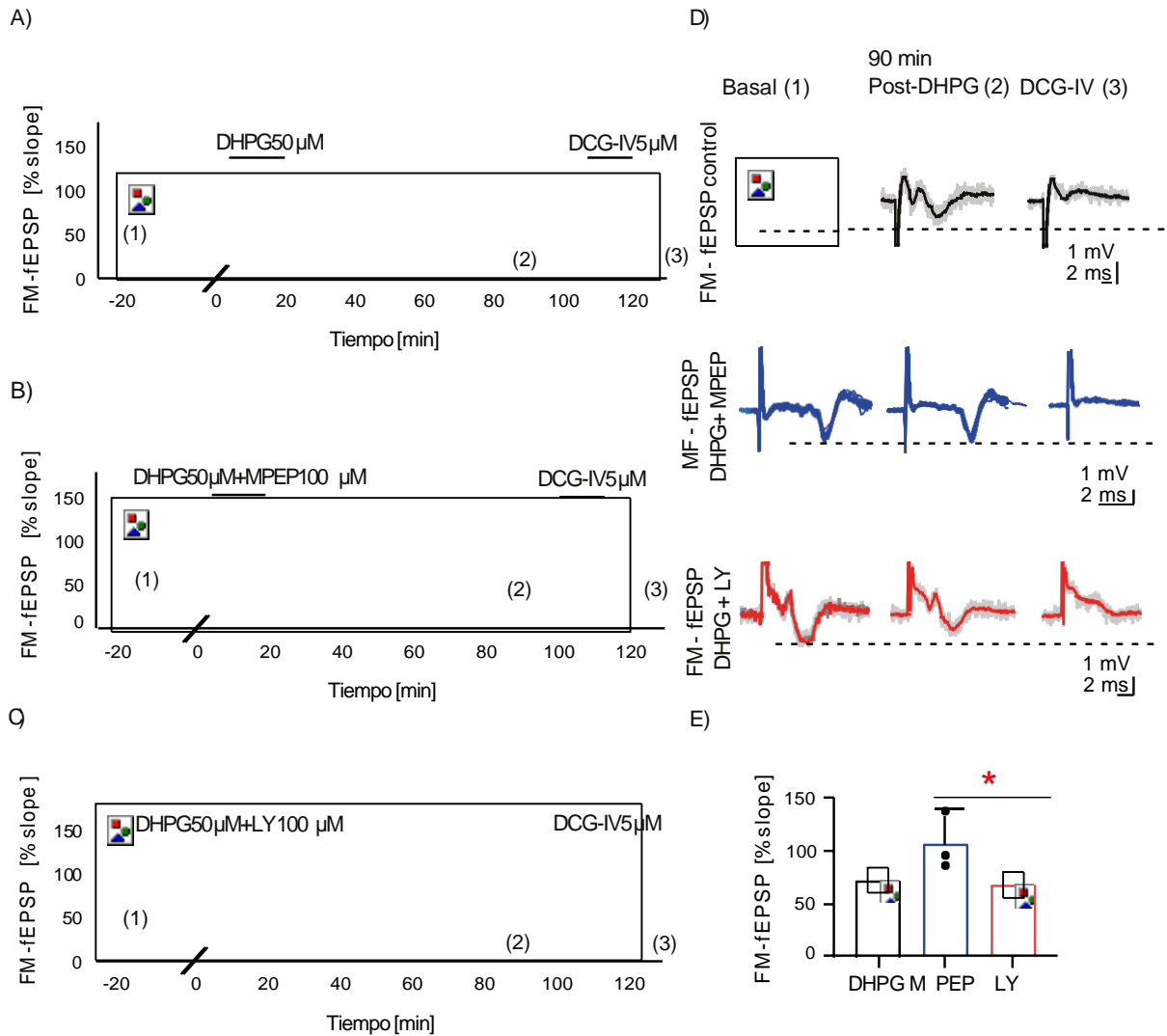


Figura 16. La estimulación con DHPG induce LTD en la sinapsis fibra musgosa –CA3. La estimulación del receptor mGlu1 induce depresión sináptica, transitoria. Mientras que la estimulación del mGluR5 induce depresión a largo plazo. Las respuestas se evocaron al estimular en el hilus del GD y registrando en el *stratum lucidum* de CA3b, se hizo un registro basal durante 20 minutos, con perfusión de LCra y estimulación a 0.06 Hz constante durante los 90 minutos del experimento. A) Grupo control, el DHPG induce depresión sináptica a partir de los 20 minutos post lavado: disminución en la pendiente del MF - fEPSP = 46.83 ± 23.9 % con respecto a la pendiente basal. A 60 minutos post lavado la disminución de la pendiente del MF – fEPSP = 21.57 ± 20.14 %. A los 90 minutos post lavado la disminución en la pendiente del MF – fEPSP = 29.74 ± 17.05 %. B) Grupo MPEP; el DHPG no logra inducir depresión sináptica en presencia del antagonista MPEP. A 20 minutos post lavado la

disminución en la pendiente del fEPSP = 3.9 ± 29.8 % con respecto a la pendiente basal. A 60 minutos post lavado se observó un aumento en la pendiente del MF – fEPSP = 8.14 ± 21.1 %. A los 90 minutos post lavado el aumento en la pendiente del MF – fEPSP = 0.47 ± 31.34 0 %. C) Grupo LY, el DHPG induce depresión sináptica en presencia del antagonista LY 456236. A partir de los 20 minutos post lavado la disminución en la pendiente del MF - fEPSP = 53.4 ± 16.59 % con respecto a la pendiente basal. A 60 minutos post lavado la disminución de la pendiente del MF – fEPSP = 31.17 ± 13.49 %. A los 90 minutos post lavado este aumento en la pendiente del MF – fEPSP = 42.55 ± 3.94 %. D) Trazos representativos de los MF - fEPSP, en negro el grupo DHPG, en azul el grupo DHPG + MPEP y en naranja el grupo DHPG + LY. En todos los trazos el 1 corresponde al promedio de 20 datos del estado basal, el segundo trazo corresponde a 20 datos promediados de la respuesta 60 min post lavado, y el tercer trazo representa el promedio de 20 datos de la respuesta inhibida después de aplicar DCGIV. Los trazos en gris corresponden a los 20 datos individuales. E) Promedio de los últimos 5 minutos del experimento, que corresponde a la respuesta a los 85 minutos después del protocolo de inducción; media \pm error estándar (% sople); n=3 rebanadas / 3 animales; ANOVA de 1 vía *P < 0.05.

A continuación, se evaluó el efecto de la activación inmune materna sobre la depresión sináptica inducida con DHPG. La Figura 17 resume los resultados obtenidos. Comparado con las rebanadas control, en las rebanadas de animales con activación inmune materna, el DHPG indujo una respuesta bifásica: depresión sináptica seguido de un aumento en la pendiente del MF - fEPSP (Animales control, MF - fEPSP a los 20 min post lavado de DHPG = 46.83 ± 23.9 % de depresión con respecto a la respuesta basal. A los 60 min = 21.57 ± 20.14 %; a los 90 min = 29.8 ± 17.05 %. En los animales con activación inmune materna la depresión del MF - fEPSP a los 20 minutos post DHPG = 89.22 ± 2.04 %. A los 60 min = 18.93 ± 10.94 %; a 90 min de lavado se encontró un aumento en la pendiente de 16.33 ± 14.59 %, lo cual se considera una potenciación con respecto a su respuesta basal.

Es importante recalcar que al finalizar los 90 min post lavado de drogas, se perfundió de manera sistemática, DCG - IV ($5 \mu\text{M}$). En todos los experimentos incluidos en este trabajo, la perfusión de DCG - IV suprimió la respuesta sináptica. En conjunto, los experimentos previamente descritos indican que la activación inmune materna

interfiere con la actividad de los receptores metabotrópicos del grupo I e interfiere con los procesos de plasticidad mediada por estos receptores.

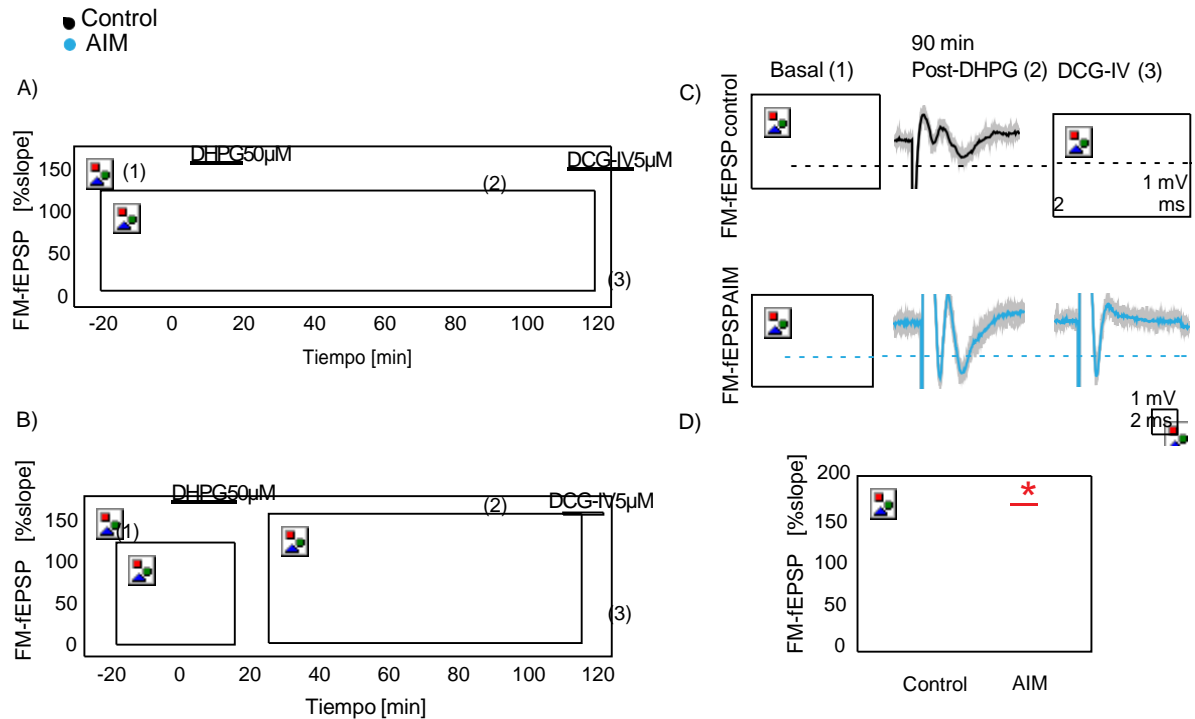


Figura 17. La activación inmune materna no altera la plasticidad mediada por el grupo I de receptores metabotrópicos de glutamato. Las respuestas se evocaron al estimular en el hilus del GD y registrando en el *stratum lucidum* de CA3b, se hizo un registro basal durante 20 minutos y para evocar depresión a largo plazo se perfundió durante 15 minutos con DHPG [50 μM], la respuesta post DHPG se registró durante 90 minutos y después se aplicó DCGIV para verificar que los registros fueron de FM-CA3. A) En estado control el DHPG induce depresión sináptica, 20 minutos post lavado la disminución en la pendiente del fEPSP = 46.83 ± 23.9 % con respecto a la pendiente basal; 60 minutos post lavado la disminución de la pendiente = 21.57 ± 20.14 %; 90 minutos post lavado la disminución en la pendiente = 29.74 ± 17.05 % B) Grupo con AIM. EL DHPG causa disminución en la pendiente del FM - fEPSP a 20 minutos post DHPG = 89.22 ± 2.04 %; a los 60 min de lavado aumento en la pendiente de 18.93 ± 10.94 %; a 90 min de lavado se encontró un aumento en la pendiente de 16.33 ± 14.59 %. C) Trazos representativos de fEPSP obtenidos de los experimentos de LTD, en ambos, el trazo 1 corresponde al promedio de 20 datos del estado basal, el segundo trazo corresponde a 20 datos promediados de la respuesta 85 minutos post DHPG y el tercer trazo representa el promedio de 20 datos de la respuesta inhibida después de aplicar DCGIV. Los trazos en gris corresponden a los 20 datos individuales. D) Media \pm error estándar de la pendiente de FM – fEPSP de 85-90 minutos post DHPG (n= 4 rebanadas / 4 animales): Control = $65.69\% \pm 17.04$; AIM = $98.45\% \pm 39.32$. t de Student para datos no pareados, *P < 0.05

La activación inmune materna modifica el umbral θ_M .

La actividad coordinada presináptica y postsináptica representan un factor determinante para la inducción de plasticidad. Cuando la tasa de disparo postsináptica está por encima o por debajo de cierto valor umbral (θ_M), puede inducirse potenciación o depresión sináptica respectivamente, en sinapsis donde la plasticidad es dependiente de receptores NMDA. En este trabajo, donde la plasticidad se induce de manera presináptica e independiente a los receptores NMDA, decidimos explorar posibles alteraciones causadas por la activación inmune materna en este umbral de plasticidad. Se evaluó el umbral de modificación θ_M , mediante una curva de respuesta (Figura 18) utilizando diferentes frecuencias de estimulación. En la tabla 1, que a continuación se muestra, resume los cambios en la amplitud del MF - EPSP a frecuencias de estimulación que van de 1 a 50 Hz.

Tabla 1. Porcentaje de depresión (d) o potenciación (p) del MF - EPSP en respuesta a diferentes frecuencias de estimulación. (n= 3 rebanadas/ 3 animales para cada condición experimental)

Control		AIM	
Frecuencia de estimulación	% Respuesta de la MF fEPSP	Frecuencia de estimulación	% Respuesta de la MF fEPSP
1 Hz	21.65 ± 7.24% ^(d)	1 Hz	38.3 ± 18.2% ^(d)
3 Hz	38.06 ± 15.96% ^(d)	3 Hz	23.5 ± 15.26% ^(d)
5 Hz	29.3 ± 7.39% ^(d)	5 Hz	46.8 ± 9.61% ^(d)
10 Hz	45.38 ± 35.01% ^(p)	10 Hz	30.85 ± 25.7% ^(d)
50 Hz	86.47 ± 78.31% ^(p)	50 Hz	125.06 ± 19.71% ^(p)

Al hacer el ajuste con una ecuación polinomial cuadrática en los datos experimentales la θ_M presentó un desplazamiento a la derecha (panel superior derecho, curva azul, Figura 18), es decir que el valor de θ_M aumentó en las ratas con AIM.

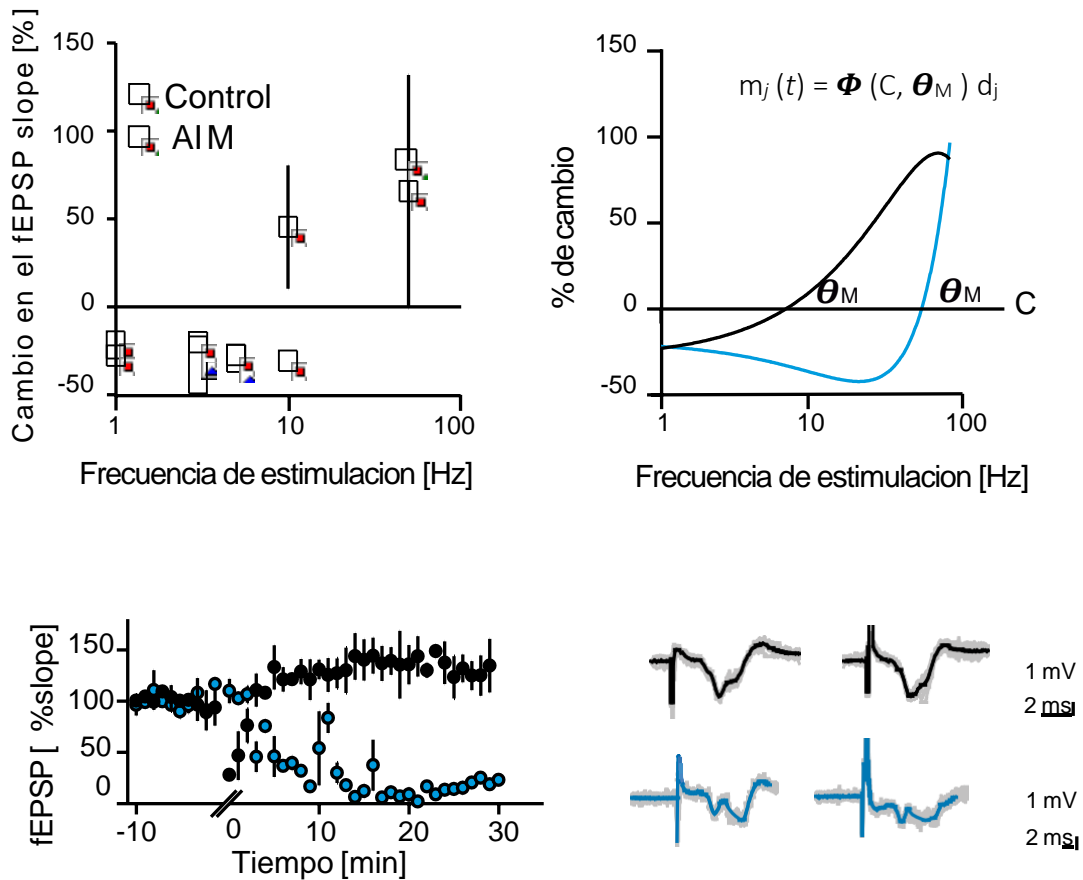


Figura 18. La activación inmune materna aumenta el valor de la θ_M . Panel superior izquierdo: Se hizo un registro basal de 15 minutos y posterior a eso se aplicaron 900 pulsos de la frecuencia a evaluar (1, 3, 5, 10 y 50), se registró durante 30 minutos y se promediaron los últimos 5 minutos por experimento. Se grafico el cambio en el fEPSP [% slope] y se determinó que en estado control (círculos negros) la frecuencia de 1 Hz produce una depresión de 21 %, a 3 Hz la depresión es de 38 % y 5 Hz se observa una depresión de 29 %, la frecuencia de 10 Hz evoca una potenciación de 45 % y a 50 Hz se ve una potenciación de 86 %. En el grupo con AIM la frecuencia de 1 Hz provoca una disminución en la pendiente de 26 %, la frecuencia de 3 Hz evoca una depresión de 23 % y a 5 Hz se observa una depresión de 29 %. A 10 Hz se observa una disminución en la pendiente de 30 % y la frecuencia de 50 Hz evoca un aumento en la pendiente de 125 %. Panel superior derecho: Ajuste matemático donde los datos se acoplan a la regla BMC, modificando el valor de θ_M en las ratas con AIM (curva azul). Panel Inferior izquierdo: Potenciación evocada con estimulación a 10 Hz en estado control y depresión evocada a la misma frecuencia en ratas con AIM. Inferior derecha. Trazos representativos de la estimulación con frecuencia a 10 Hz, en negro el control y en azul el de AIM.

DISCUSIÓN.

Los resultados de este trabajo demuestran que la activación inmune materna, inducida mediante la administración de LPS 100 μ M en los días gestacionales 15 y 16, modifica la fuerza de la transmisión sináptica y las capacidades plásticas del circuito FM – CA3 del hipocampo de la rata. Los hallazgos se resumen así: i) Disminución en la fuerza de la transmisión glutamatérgica. ii) disminución en la facilitación por frecuencia de estimulación. iii) disminución en la facilitación por pulso pareado. iv) en condiciones control la estimulación del mGluR5 induce LTD y en condiciones de activación inmune materna no se induce LTD al estimular los receptores mGluR1/5 (Figura 19).

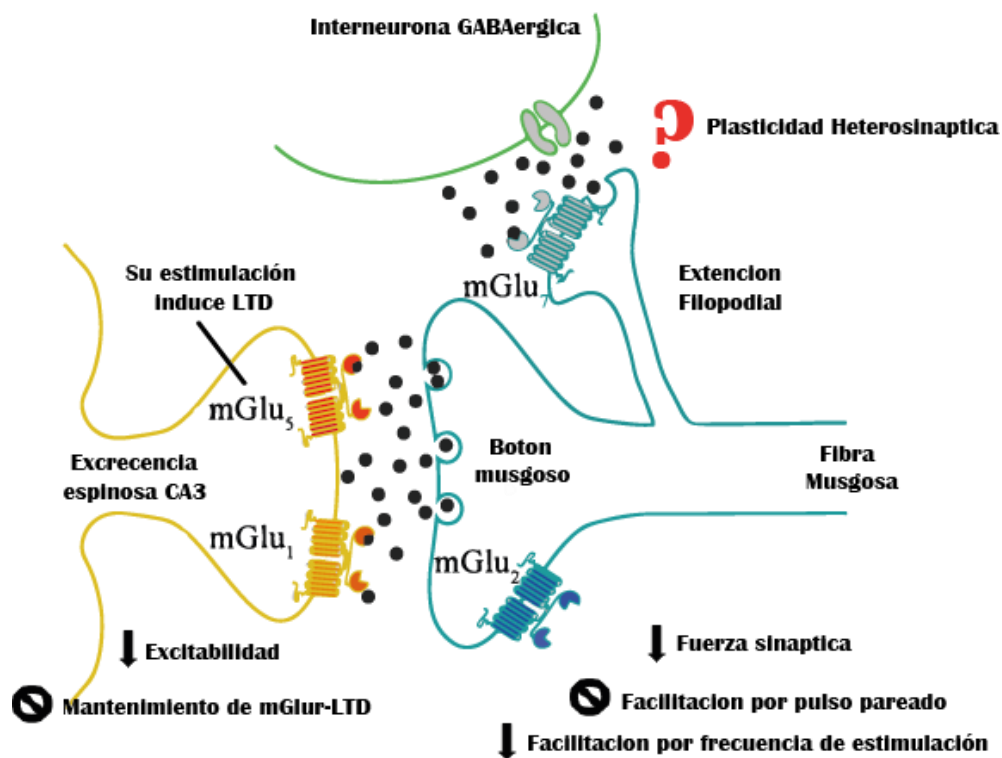


Figura 19. Mediante registros extracelulares encontramos alteraciones en la transmisión sináptica de las sinapsis FM-CA3, causadas por la exposición materna a LPS durante la gestación. Se encontró que, a partir de los 30 días postnatales, la activación inmune materna causa una disminución en la fuerza sináptica, disminuye la facilitación por frecuencia de estimulación y por pulso pareado, provoca fallos en el mantenimiento de la LTD inducida con DHPG y modificaciones en el umbral θ_M en la sinapsis FM-CA3.

Alteraciones sistémicas en las ratas gestantes.

La primera observación de este trabajo fue que la AIM inducida con LPS causa una disminución en el número de crías. Este hallazgo coincide con reportes previos que mostraron que la activación inmune materna con LPS induce muerte fetal y reabsorción de una manera dosis-dependiente (Chlodzinska et al., 2001; Renaud *et al.*, 2011). Renaud *y cols* (2011) reportaron que los eventos que preceden a la muerte fetal en un ambiente inflamatorio se deben a el aumento en los niveles de TNF- α y asociaron la administración de LPS con perfusión uteroplacentaria deficiente, desarrollo de eventos trombóticos e hipoxia placentaria y fetal. Es importante demostrar posteriormente que la aplicación i.p. de LPS induce un aumento significativo de citocinas proinflamatorias.

Alteraciones en la fuerza de la transmisión sináptica y plasticidad a corto plazo mediadas por AIM.

Los resultados electrofisiológicos obtenidos en este trabajo constituyen la primera evidencia de alteraciones en la fuerza de la transmisión sináptica y la plasticidad a corto plazo en las sinapsis FM-CA3 inducidas por AIM.

En primer lugar, se observó disminución en la amplitud máxima de las espigas poblacionales. Las espigas poblacionales son potenciales de acción de un gran número de células registradas extracelularmente. La disminución en la amplitud máxima de la espiga poblacional sugiere una disminución en la liberación de neurotransmisores y/o disminución en la excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales de CA3. En modelos de AIM con Poly I: C (el Poly I:C es una estructura química similar al dsRNA, presente en algunos virus, y se utiliza comúnmente para modelar las acciones de dsRNA extracelular; Alexopoulou *et al.*, 2001), Zhang y van Praag (2015), reportaron que las células granulares del giro dentado presentan disminución en la frecuencia de disparo de potenciales de acción tras la exposición al inmunoestimulante y la subsecuente activación inmune materna. De igual manera, Patrich *y cols.* (2016),

reportaron una disminución en la excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales de CA1, causado por activación inmune materna con Poly I: C.

Una disminución en la excitabilidad en las neuronas puede ser consecuencia de alteraciones en la función de los canales iónicos (Canales de Na⁺ y de K⁺) que dan forma a los potenciales de acción. En este sentido, se ha reportado que la AIM inducida con Poly I:C afecta la funcionalidad de los canales de K⁺ dependientes de voltaje y los canales de K de rectificación entrante (GIRKS), aumentando su expresión en corteza prefrontal (Amodeo *et al.*, 2019). Nuestros resultados no descartan ninguna de estas posibilidades. Sin embargo, y para demostrar que la AIM por LPS modifica la cinética de los canales iónicos que participan en el potencial de acción se requieren experimentos encaminados a aislar corrientes de Na⁺ y K⁺. Dichos experimentos requieren la técnica de patch clamp y no fueron objetivo de este trabajo de investigación.

Por otra parte, se encontró que la AIM inducida con LPS causa una disminución en la fuerza de la transmisión sináptica cuando ésta se evaluó con curvas E-S. Una forma conveniente de medir indirectamente la función sináptica es su “fuerza”. Funcionalmente, se define como la cantidad promedio de corriente producida en la neurona postsináptica debido a un potencial de acción en la neurona presináptica (Murthy, 1998). La disminución en la fuerza sináptica observada en este trabajo puede asociarse a modificaciones en los mecanismos de liberación de neurotransmisor en las fibras musgosas, un número disminuido de fibras activas o un menor número de sinapsis activas entre FM y CA3. Con respecto a la disminución de la latencia en las curvas E-S de espigas poblacionales. Estos resultados sugieren que la activación inmune materna podría causar una disminución en el número de fibras activas por lo que a manera de compensación se recluta un mayor número de neuronas.

En el giro dentado, la densidad de espinas dendríticas de las células granulares se reduce en ratas con activación inmune materna inducida con Poly I:C (Abazyan *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2014). Estudios previos en los que también se utilizó LPS, reportan

disminución en la neurogénesis y en la proliferación neuronal del GD (Lin & Wang, 2014; Cui et al., 2009). De igual manera, Zhao y cols. (2019), reportaron que la elevación de citocinas proinflamatorias como IL-6 y TNF- α en el cerebro fetal en ratas con activación inmune materna induce reducción en la neurogénesis del GD. Además, la AIM favorece el estado activo M1 de la microglía, lo cual se asocia con inhibición de neurogénesis en el giro dentado (Zhao et al., 2019; Murray et al., 2018). En conjunto, estos reportes sugieren que las alteraciones en las propiedades sinápticas están asociadas a la disminución de fibras y disminución en la proliferación neuronal del giro dentado en las ratas con AIM. Sin embargo, para demostrar y atribuir los resultados de nuestras ratas a la disminución en la densidad de fibras musgosas activas, se requieren de estudios histológicos adicionales.

Un hallazgo adicional fue la disminución en la facilitación de las respuestas sinápticas de campo por frecuencia de estimulación y la disminución en la facilitación por pulso pareado. Este trabajo representa la primera evidencia experimental de alteraciones en los procesos de facilitación de la sinapsis FM-CA3 causados por activación inmune materna. Dicha reducción puede deberse a fallos en los mecanismos de liberación de neurotransmisor asociados a la facilitación, como el sistema de amortiguamiento de Ca²⁺ (sinaptotagmina 7, sinaptotagmina 1 y munc-18). En contraste con nuestro hallazgo, trabajos previos realizados en la sinapsis CA3 – CA1 reportaron que no hay diferencias en las propiedades de liberación de neurotransmisor entre los animales control y aquellos que fueron expuestos a Poly I:C prenatalmente (Ito et al., 2010; Zhang & vanPraag, 2015; Patrich et al., 2016). Si las propiedades de liberación de neurotransmisor, el control de calcio intracelular o la actividad postsináptica de los receptores de glutamato están alterados en la sinapsis FM – CA3, requiere experimentos adicionales dirigidos a esclarecer esta interrogante.

Inducción de LTD y activación inmune materna.

EL primer fenómeno de plasticidad a largo plazo que se evaluó en este trabajo fue la inducción de LTD eléctrica mediada por la activación sostenida del receptor metabotrópico mGluR2 (Kobayashi et al., 1989). Dado que existen antecedentes donde se asocia bajos niveles de expresión de mGluR2 en áreas como la corteza prefrontal, cerebelo y giro dentado (González - Maeso *et al.*, 2008; Bullock *et al.*, 2008; Egan *et al.*, 2004), alteraciones en el mGluR5 en el vermis y polimorfismos del gen GMR3 que codifica para el receptor mGluR3 que podrían estar asociados con el incremento del riesgo a desarrollar esquizofrenia (Egan et al., 2004). Este trabajo planteó que esta forma de plasticidad presentaría alteraciones en su inducción o mantenimiento. Contrario a lo que esperábamos, no se encontraron diferencias significativas en la magnitud de LTD de los animales con activación inmune materna y el grupo control. Sin embargo, las alteraciones en la LTD hipocampal y AIM están documentadas. Escobar y cols. (2011) encontraron que las alteraciones en la inducción de LTD por AIM son observables desde el día postnatal 50. Dichos hallazgos sugieren que las alteraciones podrían ser dependientes de la edad, y los autores atribuyen esto a un desbalance en la proporción de receptores AMPA/NMDA en animales expuestos a LPS. En la sinapsis FM – CA3, la LTD esta mediada por receptores metabotrópicos metabotrópicos, en particular los mGluR2. Estos reportes indican que no podemos descartar que con la maduración cerebral se pueda desenmascarar una alteración en los mecanismos celulares que subyacen a la depresión a largo plazo. Consistente con esta idea, un trabajo previo del laboratorio demostró en animales expuestos a MK-801 (un modelo que mimetiza síntomas negativos y cognitivos de la esquizofrenia) que solo hasta la etapa adulta (90 días postnatales), se presentan alteraciones en la inducción de LTD hipocampal (Hernandez-Frausto et al., 2019).

Depresión mediada por receptores metabotrópicos del grupo I y AIM.

La información sobre la depresión sináptica inducida por la activación del grupo I de mGluRs en la sinapsis FM – CA3, es controversial. Susuki y Okada (2010) reportaron que el DHPG (agonista de los receptores mGluR1 y mGluR5) induce depresión en la sinapsis MF – CA3. Sin embargo, estos experimentos no profundizaron en la duración temporal de la depresión sináptica pues sus experimentos duraron 60 minutos. Una contribución de este trabajo fue demostrar que la MF – LTD inducida con DHPG se mantiene por periodos superiores a los 90 minutos.

Otra aportación de nuestro trabajo fue realizar una disección farmacológica de la contribución de los mGluRs del grupo I en la MF – LTD. El bloqueo selectivo de los receptores mGluR1 y mGluR5 (con LY-36835 o MPEP, respectivamente), demostró la participación individual de estos receptores. Cuando el receptor mGluR5 fue bloqueado, el mGluR1 solo es capaz de inducir depresión sináptica transitoria que se revierte con el lavado del DHPG. El efecto transitorio de la activación del mGluR1 sugiere que este receptor solo está involucrado en la inducción de LTD, sin ser suficiente para desencadenar un mecanismo a largo plazo.

Por otra parte, si el mGluR1 es farmacológicamente bloqueado durante la perfusión de DHPG, la activación del mGluR5 induce MF – LTD. Este experimento sugiere que el mGluR5 participa tanto en la inducción como en el mantenimiento de la depresión sináptica. Camodeca y cols. (1999) reportaron que la depresión inducida por activación de los mGluRs del grupo I, depende principalmente del mGluR5 y requiere activación conjunta de PKC y PKA. Dicha observación fue realizada en la sinapsis vía perforante – GD. En contraste, en la región CA1 la inducción de LTD requiere activación de ambos receptores (mGluR1 y mGluR5).

Hasta ahora se sabe que, concentraciones altas de DHPG [> 50 μ M] inducen LTD en las sinapsis FM-CA3 (Suzuki y Okada, 2010). Y se sabe que la activación de los receptores mGlu1 y mGlu5 reduce la conductancia de membrana mediada por

canales de fuga de potasio (Guérineau *et al.*, 1994) y activa una conductancia interna catiónica no selectiva en las neuronas piramidales de CA3 (Guérineau *et al.*, 1994; Pozzo Miller *et al.*, 1995). Sin embargo, nuestro trabajo es el primero que exploró y determinó la participación crítica de un receptor (el mGluR5) para la inducción de MF – LTD.

El siguiente paso fue determinar el estado de la depresión sináptica por activación de mGluRs del grupo I en el modelo de AIM por LPS. De manera consistente, nuestros resultados mostraron una falla en el mantenimiento de la depresión sináptica del MF fEPSP. Tras la perfusión de DHPG, las respuestas sinápticas experimentaron una depresión transitoria que se revertió en los primeros 20 min posteriores al lavado del agonista. A diferencia de lo observado en condición control, los animales expuestos a AIM por LPS fueron incapaces de echar a andar la maquinaria bioquímica involucrada en la fase tardía de la depresión sináptica. Reportes previos determinaron que existe una disminución en la expresión de proteínas de unión como [³⁵S]metionina/cisteína, así como una disminución de la proteína Arc (proteínas requeridas para la inducción y mantenimiento de la mGluR-LTD), en la región CA1 hipocampal en modelos animales de autismo, lo que provoca fallos en la LTD inducida por DHPG (Auerbach *et al.*, 2011). Dado que la AIM es factor de riesgo para el desarrollo de autismo, es viable asumir que la AIM por LPS utilizada en este proyecto, es responsable de una alteración en el funcionamiento de los receptores metabotrópicos de glutamato del grupo I.

Modificación del umbral θ_M por AIM inducida con LPS.

Para explorar la posibilidad de un deterioro en la inducción de plasticidad con una aproximación electrofisiológica, se analizó el umbral de modificación θ_M . Nuestros resultados mostraron que la activación inmune materna por LPS induce un desplazamiento hacia la derecha en la gráfica de θ_M , que significa un aumento en la actividad postsináptica promedio. Tal como lo plantea el modelo BCM, altos niveles de actividad postsináptica modificarán y desplazarán en una gráfica el umbral de θ_M

(Hulme *et al.*, 2014). Los modelos de plasticidad intentan acoplar los experimentos de plasticidad dependientes del tiempo con la actividad postsináptica promedio. Una característica destacada por la mayoría de los modelos es la noción de que el umbral θ_M se correlaciona con el voltaje postsináptico, la concentración de calcio intracelular, la tasa de descarga postsináptica u otras variables neuronales relacionadas a la activación postsináptica (Artola & Singer, 1993; Pfister & Gerstner, 2006; Morrison *et al.*, 2008; Graupner & Brunel, 2012; Gainey & Feldman, 2017). Por lo que modificaciones en el umbral podrían estar asociados con alteraciones en cualquiera de estas variables. Dado que en los animales expuestos a activación inmune materna se ha visto una disminución en la cantidad y/o funcionalidad de las fibras musgosas, la presencia de un mecanismo compensatorio postsináptico explicaría el desplazamiento en el umbral θ_M a la derecha. Sin embargo, no existen reportes en la literatura que apoyen o descarten esta hipótesis.

Es interesante que el modelo BMC se ha aplicado para explorar cómo distintas condiciones fisiológicas modifican (desplazan en una gráfica) el umbral θ_M . Reportes previos mostraron que una menor actividad de la corteza visual, inducida mediante periodos de luz-oscuridad, recorre el umbral a la izquierda, haciendo más fácil la inducción de LTP (Kirkwood *et al.*, 1996; Philpot *et al.*, 2001). Sin embargo, no se había aplicado hasta ahora para variables relacionadas con patologías, o en modelos de activación inmune materna.

Curiosamente, el modelo BMC se ajusta muy bien a los datos experimentales. Sin embargo, este modelo tiene sus limitaciones. Dado que es puramente hebbiano y no incluye la noción de mecanismos compensatorios. Por ejemplo, la plasticidad heterosináptica también podría actuar como un mecanismo compensatorio (Lynch *et al.*, 1977; Chen *et al.*, 2013; Chistiakova *et al.*, 2015). Sobre todo, en esta sinapsis, donde las fibras musgosas hacen un mayor número de contactos con interneuronas GABAérgicas que con neuronas piramidales de CA3 (Fig. 20). Pero estos mecanismos no pueden ser medidos con este tipo de modelos, debido a que solo se mide la actividad postsináptica promedio de la vía estimulada.

Es claro, es que la infección prenatal inducida con LPS, provoca alteraciones sobre la función de las sinapsis FM-CA3. Y profundizar en más análisis para detectar de manera mecánica estas alteraciones, enriquecerá los hallazgos de este trabajo.

CONCLUSIÓN.

La activación inmune materna es capaz de modificar la plasticidad mediada por el receptor metabotrópico de glutamato mGluR5 en el circuito GD-CA3. Provocando que no se de la fase de mantenimiento de la LTD que esta mediada por este receptor. Y causando disminución en la fuerza sináptica y disminución en la facilitación en las fibras musgosas.

PERSPECTIVAS.

- Explorar con técnicas de patch clamp en célula completa el estado de las diversas corrientes que dan forma al potencial de acción: corrientes de sodio dependientes de voltaje (I_{Na+}), corrientes de potasio transitorias (I_A) y corrientes de potasio persistentes (I_D).
- Explorar posibles alteraciones que dan forma a la excitabilidad intrínseca de las neuronas piramidales de CA3, utilizando la técnica de patch clamp.
- Explorar si la AIM interfiere con la inducción y expresión de potenciación a largo plazo (MF LTP) de la sinapsis MF – CA3.
- Determinar mediante el uso de técnicas conductuales, el estado cognitivo de los animales expuestos a AIM.

REFERENCIAS.

- Abdul-Ghani, M. A., Valiante T. A., Carlen P. L. & Pennefather P. S. 2017. Metabotropic glutamate receptors coupled to IP3 production mediate inhibition of IAHP in rat dentate granule neurons. *J Neurophysiol.* 76: 2691–2700.
- Acsady, L., Kamondi A., Sik A., Freund T. & Buzsaki G. 1998. GABAergic cells are the major postsynaptic targets of mossy fibers in the rat hippocampus. *J. Neurosci.* 18: 3386–3403.
- Aghajanian, G. & Marek G. 2000. Serotonin model of schizophrenia: emerging role of glutamate mechanisms. *Brain Res Rev.* 31: 302-312.
- Alexopoulou, L., Thomas V., Schnare M., Lobet Y., Anguita J., Schoen R.T., Medzhitov R., Fikrig E. & Flavell R.A. 2002. Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and in TLR1- and TLR2-deficient mice. *Nat Med.* 8: 878–84.
- Alle, H., Jonas P. & Geiger J. R. 2001. PTP and LTP at a hippocampal mossy fiber-interneuron synapse. *Proc Natl Acad Sci.* 98: 14708–14713.
- Akira, S., Takeda K. & Kaisho T. 2001. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol.* 2: 675–80.
- Amodeo, D. A., Lai C. Y., Hassan O., Mukamel E. A., Behrens M. M. & Powell S. B. 2019. Maternal immune activation impairs cognitive flexibility and alters transcription in frontal cortex. *Neurobiology of disease.* 125: 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.01.025>
- Andersen, P., Blackstad T.W. & Lomo T. 1966. Location and identification of excitatory synapses on hippocampal pyramidal cells. *Expl Brain Res.* 1: 236–248.
- Andersen, Morris R., Amaral D., Bliss T. & O'keefe J., 2007. *The Hippocampus book.* Oxford University press. p. 873

- Anthony, N., Foldi I. & Hidalgo A. 2018. Toll and Toll-like receptor signalling in development. *Dev.* 145: 1-6.
- Artola, A. & Singer W. 1993. Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation. *Trends Neurosci.* 16: 480–487.
- Auerbach, B. D., Osterweil E. K. & Bear M. F. 2011. Mutations causing syndromic autism define an axis of synaptic pathophysiology. *Nature.* 480: 63-69.
- Baharnoori, M., Brake W.G. & Srivastava L.K. 2009. Prenatal immune challenge induces developmental changes in the morphology of pyramidal neurons of the prefrontal cortex and hippocampus in rats. *Schizophrenia Research.* 10: 99–109.
- Barbara, J. G. 2002. IP3-dependent calcium-induced calcium release mediates bidirectional calcium waves in neurones: functional implications for synaptic plasticity. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics.* 1600: 12–18.
- Barres, B.A. 2008. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron.* 60: 430–440.
- Barros, C. M., Sakata R. K., T.S.A., Machado I. A., Gerola L. R. & Salomão R. 2011. Citocinas y Dolor. *Rev Bras Anesthesiol. Artículo de revisión.* 61(2): 137-142.
- Basta-Kaim, A., Fijai K., Lusarczyk J.S., Trojan E., Giombik K., Budzixzewska B., Léskiewicz M., Regulska M., Kubera M., Lasón W. & Wedzony K. 2015. Prenatal administration of lipopolysaccharide induces sex-dependent changes in glutamic acid decarboxylase and parvalbumin in the adult rat brain. *Neuroscience.* 287: 78–92.
- Baude, A., Nusser Z., Roberts J. D. B., Mulvihill E., McIlhinney J. R. A. & Somogyi P. 1993. The metabotropic glutamate receptor (mGluR α) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron.* 11: 771–787.

- Baude, A., Nusser Z., Molnar E., McIlhinney R. A. & Somogyi P. 1995. High-resolution immunogold localization of AMPA type glutamate receptor subunits at synaptic and non-synaptic sites in rat hippocampus. *Neurosci.* 69: 1031–1055.
- Bayer, S. A. 1980. Development of the hippocampal region in the rat. II. Morphogenesis during embryonic and early postnatal life. *J. Comp. Neurol.* 190: 115–134.
- Bellone, C. & Luscher C. 2005. mGluRs induce a long term depression in the ventral tegmental area that involves a switch of the subunit composition of AMPA receptors. *Eur. J. Neurosci.* 21: 1280–1288.
- Bellone, C. & Luscher, C. 2006. Cocaine triggered AMPA receptor redistribution is reversed in vivo by mGluR-dependent long-term depression. *Nat. Neurosci.* 9: 636–641.
- Berridge, M. J. 2005. Unlocking the secrets of cell signaling. *Annu Rev Physiol.* 67: 1-21.
- Bienenstock, E., Cooper L., & Munro P. 1982. Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J. of Neurosci.* 2(1): 32-38.
- Blümcke, I., Behle K., Malitschek B., Kuhn R., Knöpfel T., Wolf H. K. & Wiestler O. D. 1996. Immunohistochemical distribution of metabotropic glutamate receptor subtypes mGluR1b, mGluR2/3, mGluR4a and mGluR5 in human hippocampus. *Brain Res.* 736: 217–226.
- Boksa, P. 2010. Effects of prenatal infection on brain development and behavior: A review of findings from animal models. *Brain Behav Immun.* 24: 881–897.
- Bradley, S. R., Marino M. J., Wittmann M., Rouse S. T., Awad H., Levey A. L. & Conn P. J. 2000. Activation of group II metabotropic glutamate receptors inhibits synaptic excitation of the substantia nigra pars reticulata. *J. Neurosci.* 20: 3085–3094.

- Brown, A.S., Begg M.D., Gravenstein S., Schaefer C.A., Wyatt R.J., Bresnahan M., Babulas V.P. & Susser E.S. 2004. Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 61: 774–780.
- Brown, A.S. 2006. Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 32: 200–202.
- Bowie, A. G. & Hago, I. R. 2005. The role of Toll-like receptors in the host response to viruses. *Mol. Immunol*. 42: 859-867.
- Bullock, W. M., Cardon K., Bustillo J., Roberts R. C. & Perrone-Bizzozero N. I. 2008. Altered expression of genes involved in GABAergic transmission and neuromodulation of granule cell activity in the cerebellum of schizophrenia patients. *Am J Psychiatry*. 165: 1594–1603.
- Camara, M. L., Corrigan F., Jaehne E. J., Jawahar M. C., Anscorb H. & Baune B. T. 2015. Effects of centrally administered etanercept on behavior, microglia, and astrocytes in mice following a peripheral immune challenge. *Neuropsychopharmacology*. 40, 502-12.
- Camodeca, N., Breakwell N. A., Rowan M. J. & Anwyl R. 1999. Induction of LTD by activation of group I mGluR in the dentate gyrus in vitro. *Neuropharmacology*. 38 (10): 1597-1606.
- Carpentier, P.A. y Palmer T. D. 2009. Immune influence on adult neural stem cell regulation and function. *Neuron*. 64: 79–92.
- Cartmell, J. & Schoepp D. D. 2000. Regulation of Neurotransmitter Release by Metabotropic Glutamate Receptors. *J. Neurochem*. 75: 889-907.
- Chess, S. 1971. Autism in children with congenital rubella. *J Autism. Child Schizophr*. 1: 33–47.

- Chen, G., Harata N.C. & Tsien R.W. 2004. Paired-pulse depression of unitary quantal amplitude at single hippocampal synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101(4): 1063–1068.
- Chen, J. Y., Lonjers P., Lee C., Chistiakova M., Volgushev M. & Bazhenov M. 2013. Heterosynaptic plasticity prevents runaways synaptic dynamics. *J. Neurosci*. 33: 15915–15929.
- Chistiakova, M., Bannon N. M., Chen J. Y., Bazhenov M. & Volgushev M. 2015. Homeostatic role of heterosynaptic plasticity: models and experiments. *Front. Comput. Neurosci*. 9 (89): 1-22.
- Choi, B., Woo L. H., Mo S., Kim J. Y., Kim H. W., Rhyu I. J., Hong E., Lee Y. K., Choi J. S., Kim C. H. & Kim H. 2018. Inositol 1, 4, 5-trisphosphate 3-kinase A overexpressed in mouse forebrain modulates synaptic transmission and mGluR-LTD of CA1 pyramidal neurons. *PLoS One*. 13: 1–27.
- Cingolani, L.A., Thalhammer A., Yu L.M., Catalano M., Ramos T., Colicos M.A. y Goda Y. 2008. Activity-dependent regulation of synaptic AMPA receptor composition and abundance by beta3 integrins. *Neuron*. 58: 749–762.
- Cui, K., Ashdown, H., Luheshi, G.N., Boksa, P. (2009). Effects of prenatal immune activation on hippocampal neurogenesis in the rat. *Schizophr. Res*. 113, 288–297.
- Davalos, D., Grutzendler J., Yang G., Kim J. V., Zuo Y., Jung S., Littman D. R., Dustin M. L., & Gan W. B. 2005. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci* 8: 752-758.
- Debanne, D. et al., 1996. Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affects subsequent release. *The Journal of physiology*. 491 (Pt1): 163–176.
- Deverman, E. B. y Patterson H. P. 2009. Cytokines and CNS Development. *Review. Neuron* 64: 61-78.

- Dingledine, R., McBain C. J. & McNamara J.O. 1990. Excitatory amino acid receptors in epilepsy. *Trends Pharmacol Sci.* 11(8): 334–338.
- Egan, M. F., Straub R. E., Goldberg T. E., Yakub I., Callicott J. H., Hariri A. R., Mattay V. S., Bertolino A., Hyde T. M., Shannon-Weickert C., Akil M., Crook J., Krishna R., Vakkalanka, Balkissoon R., Gibbs R. A., Kleinman J. E. & Weinberger D. R. 2004. Variation in GRM3 affects cognition, prefrontal glutamate, and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci.* 101: 12604–12609.
- Engelhardt, B. 2008. The blood-l nervous system barriers actively control immune cell entry into the central nervous system. *Curr Pharm Design.* 14(16): 1555- 1565.
- Fatemi, S. H., Folsom T. D., Kneeland R. E. and Liesch S. B. 2011. Metabotropic glutamate receptor 5 upregulation in children with autism is associated with underexpression of both Fragile X mental retardation protein and GABAA receptor beta 3 in adults with autism. *Anat Rec.* 294(10): 10.
- Fernandez de Cossio, L., Guzman A., Van der Veldt S., Luheshi G.N. 2017. Prenatal infection leads to ASD-like behavior and altered synaptic pruning in the mouse offspring. *Brain Behav Immun* 63: 88–98.
- Fioravante, D. & Regehr W.G. 2011. Short-term forms of presynaptic plasticity. *Current Opinion in Neurobiology.* 21(2): 269–274.
- Gainey, M. A. & Feldman D. E. 2017. Multiple shared mechanisms for homeostatic plasticity in rodent somatosensory and visual cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 372: 20160157.
- Galván, E. J., Calixto E. & Barrionuevo G. 2008. Bidirectional Hebbian plasticity at hippocampal mossy fiber synapses on CA3 interneurons. *J Neurosci.* 28: 14042–14055.
- Gay, N. J. & Gangloff M. 2007. Structure and function of Toll receptors and their ligands. *Annu. Rev. Biochem.* 76: 141-165.

- Guérineau, N. C., Gähwiler B. H., Gerber U. 1994. Reduction of resting K⁺ current by metabotropic glutamate and muscarinic receptors in rat CA3 cells: mediation by G-proteins. *J Physiol.* 474: 27–33.
- Giulian, D., Young D.G., Woodward J., Brown D.C. y Lachman L.B. 1988. Interleukin-1 is an astroglial growth factor in the developing brain. *J. Neurosci.* 8: 709–714.
- González-Maeso J., Ang R. L., Yuen T., Chan P., Weisstaub N. V., López-Giménez J. F., Zhou M., Okawa Y., Callado L. F., Milligan G., Gingrich J. A., Filizola M., Meana J. J. & Sealfon S. C. 2008. Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis. *Nature.* 452(7183): 93-97.
- Graupner, M. & Brunel N. 2012. Calcium-based plasticity model explains sensitivity of synaptic changes to spike pattern, rate, and dendritic location. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109: 3991–3996.
- Griego, E. & Galvan E. J. 2019. Metabotropic Glutamate Receptors at the Aged Mossy Fiber - CA3 synapse of the hippocampus. Manuscript (Clear Copy).
- Gutiérrez, R. 2003. The GABAergic phenotype of the “glutamatergic” granule cells of the dentate gyrus. *Progress in Neurobiology.* 71: 337–358.
- Gutiérrez, R. 2005. The dual glutamatergic–GABAergic phenotype of hippocampal granule cells. *TRENDS in Neurosciences.* 28 (6): 297-303.
- Hansel, D., & Mato G. 2013. Short-term plasticity explains irregular persistent activity in working memory tasks. *J.Neurosci.* 33(1): 133–149.
- Harney, S. C., Rowan M. and Anwyl R. 2006. Long-term depression of NMDA receptor-mediated synaptic transmission is dependent on activation of metabotropic glutamate receptors and is altered to long-term potentiation by low intracellular calcium buffering. *J. Neurosci.* 26: 1128–1132.
- Hebb, D. O. 1949. *The Organization of Behavior.* New York: Wiley.

- 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.
- Hemmi, H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. 2000. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature.* 408: 740.
- Hernández-Frausto, M., López-Rubalcava C. & Galván E. J. 2019. Progressive Alterations in Synaptic Transmission and Plasticity of Area CA1 Precede the Cognitive Impairment Associated with Neonatal Administration of MK-801. *J. neurosci.* 40: 205-217.
- Herrero, J. M. 2010. ABC de los Toll-like receptors*: relacion con el desarrollo y progresión de enfermedades autoinmunes. *Semin Fund Esp Reumatol.*11(4): 135–143.
- Hollmann, M., O’Shea-Greenfield A., Rogers S.W. & Heinemann S. 1989. Cloning by functional expression of a member of the glutamate receptor family. *Nature* 342:643-648.
- Hollmann, M. & Heinemann S. 1994. Cloned glutamate receptors. *Annu Rev Neurosci.* 17: 31-108.
- Hoshiko, M., Arnoux I., Avignone E., Yamamoto N. y Audinat E. 2012. Deficiency of the microglial receptor CX3CR1 impairs postnatal functional development of thalamocortical synapses in the barrel cortex. *J Neurosci.* 32(43): 15106-11.
- Huber, K. M., Kayser M. S. and Bear M. F. 2000. Role for rapid dendritic protein synthesis in hippocampal mGluR dependent long-term depression. *Science.* 288: 1254–1257.
- Huber, K. M., Roder J. C. and Bear M. F. 2001. Chemical induction of mGluR5- and protein synthesis-dependent long term depression in hippocampal area CA1. *J. Neurophysiol.* 86: 321–325.

- Hulme, S. R., Jones O. D., Raymond C. R., Sah P. & Abraham W. C. 2014. Mechanisms of heterosynaptic metaplasticity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 369: 20130148.
- Hyman, S.L., Arndt T.L. y Rodier P.M. 2005. Environmental agents and autism: once and future associations. *Int Rev Res Ment Retard.* 30:171–194.
- Ikeda, S. R., Lovinger D. M., McCool B. A. & Lewis D. L. 1995. Heterologous expression of metabotropic glutamate receptors in adult rat sympathetic neurons: subtype specific coupling to ion channels. *Neuron.* 14: 1029–1038.
- Ito, H. T., Smith S. E. P., Hsiao E. & Patterson P. H. 2010. Maternal immune activation alters nonspatial information processing in the hippocampus of the adult offspring. *Brain Behav Immun.* 24(6): 930-41.
- Jackman, S.L. & Regehr W.G. 2017. The Mechanisms and Functions of Synaptic Facilitation. *Neuron.* 94(3): 447–464.
- Jacobson, M. 1993. *Developmental Neurobiology (Third Edition)*. Ed. Plenum Press.
- 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 (2): 447–455.
- 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 (2): 497-506.
- Kawasaki, T., Kawai T. 2014. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol.* 25 (5): 461.
- Kawabata, M., Imamura T. & Miyazono K. 1998. Signal transduction by bone morphogenetic proteins. *Cytokine Growth Factor Rev.* 9: 49–61.

- Keinänen, K., Wisden W., Sommer B., Werner P., Herb A., Verdoorn T. A., Sakmann B. & Seeburg P. H. A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science*. 249(4968):556-60
- Kim, I.J., Beck H.N., Lein P.J. y Higgins D. 2002. Interferon gamma induces retrograde dendritic retraction and inhibits synapse formation. *J. Neurosci.* 22: 4530–4539.
- Kindt, T.J., Goldsby R.A., Osborne B.A. 2007. *Kuby Immunology*, 6 ed. WH Freeman and Company (NY).
- Kobayashi, K., Manabe T, Takahashi T. Presynaptic long-term depression at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapse. *Science*. 1996 Aug 2;273(5275): 648-50.
- Knöpfel, T. & Uusisaari M. 2007. Modulation of Excitation by Metabotropic Glutamate Receptors. *Inhibitory Regulation of Excitatory Neurotransmission. Results and Problems in Cell Differentiation.* 44: 163-164.
- LaFerla, F.M., Sugarman M.C., Lane T.E. y Leissring M.A. 2000. Regional hypomyelination and dysplasia in transgenic mice with astrocy directed expression of interferon-gamma. *J. Mol. Neurosci.* 15: 45–59.
- Lenz, K. M., Nugent B.M., Haliyur R. y McCarthy M.M. 2013. Microglia are essential to masculinization of brain and behavior. *J Neurosci.* 33(7): 2761-72.
- Lenz, M. K. y Nelson H.L. 2018. Microglia and Beyond: Innate Immune Cells As Regulators of Brain Development and Behavioral Function. *Front Immunol.* 9: 698.
- Lemaitre, B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., & Hoffmann J.A. 1996. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell.* 86(6): 973-83.

- Li, S., Goorha S., Ballou L. R. & Blatteis C. M. 2003. Intracerebroventricular interleukin 6, macrophage inflammatory protein 1 β and IL-18: pyrogenic and PGE(2)-mediated? Brain Res. 992: 76–84.
- Li, W. Y., Chang Y. C., Lee L. J. & Lee L. 2014. Prenatal Infection Affects the Neuronal Architecture and Cognitive Function in Adult Mice. Dev Neurosci. 36: 359–370.
- Lin, Y. L. & Wang S. 2014. Prenatal lipopolysaccharide exposure increases depression-like behaviors and reduces hippocampal neurogenesis in adult rats. Behav Brain Res. 1(259): 24-34.
- Lorente de Nó R., 1934. Studies on the structure of the cerebral cortex II: Continuation of the study of the ammonic system. Journal für psychologie und neurologie, 46: 113-177.
- Lujan, R., Nusser, Z., Roberts, J. D., Shigemoto, R. and Somogyi, P. (1996) Perisynaptic location of metabotropic glutamate receptors mGluR1 and mGluR5 on dendrites and dendritic spines in the rat hippocampus. Eur. J. Neurosci. 8: 1488–1500.
- Lynch, G. S., Dunwiddie T. & Gribkoff V. 1977. Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. Nature. 266: 737–739.
- Manicassamy, S. & Pulendran B. 2009. Modulation of adaptative immunity with Tolllike receptors. Semin Immunol. 21(4): 185-193.
- Matosin, N., Hons B. M., Fernandez-Enright F., Frank E., Deng C., Wong J., Huang X., & Newell K. A. 2014. Metabotropic glutamate receptor mGluR2/3 and mGluR5 binding in the anterior cingulate cortex in psychotic and nonpsychotic depression, bipolar disorder and schizophrenia: implications for novel mGluR-based therapeutics. J Psychiatry Neurosciv. 39(6): 407-416.
- Mattei, D., Djodari-Irani A., Hadar R., Pelz A., de Cossío L.F., Goetz T., Matyash M., Kettenmann H., Winter C. y Wolf S.A. 2014. Minocycline rescues decrease in

- neurogenesis, increase in microglía cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia. *Brain Behav Immun.* 38:175–184.
- Mayer, M. L. & Armstrong N. 2004. Structure and function of glutamate receptor ion channels. *Annu Rev Physiol.* 66: 161–181.
- McHugh, T.J., Jones M. W., Quinn J. J., Balthasar N., Coppari R., Elmquist J.K., Lowell B. B., Fanselow M. S., Wilson M. A., Tonegawa S. 2007. Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network. *Science*, 317(5834): p. 94-9.
- Mednick, S.A., Machon R.A., Huttunen M.O. y Bonett D. 1988. Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. *Arch Gen Psychiatry.* 45:189–192.
- Mesa-Villanueva, M. & Patiño P.J. 2006. Receptores tipo Toll: entre el reconocimiento de lo no propio infeccioso y las señales endógenas de peligro. *Revisión. Inmunología.* 25 (2): 115-130.
- Meyer, U, Feldon J. y Fatemi S.H. 2009. In-vivo rodent models for the experimental investigation of prenatal immune activation effects in neurodevelopmental brain disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 33: 1061–1079.
- Meyer, U. 2013. Developmental neuroinflammation and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 42: 20–34.
- Meyer, U. 2014. Prenatal Poly(I:C) exposure and other developmental immune activation models in rodent systems. *Biol Psychiatry.* 75: 307–315.
- Miles, R. & Poncer J. C. 1993. Metabotropic glutamate receptors mediate a posttetanic excitation of guinea-pig hippocampal inhibitory neurones. *J Physiol.* 463: 461–473.
- Monaghan, D. T. & Cotman C. W. 1985. Distribution of N-methyl-d-aspartate-sensitive L-[3H] glutamate-binding sites in rat brain. *J. Neurosci.* 5: 2909–2919.

- Morgan, J. T., Chana G., Pardo C. A., Achim C., Semendeferi K., Buckwalter J., Courchesne E., Everall I. P. 2010. Microglial Activation and Increased Microglial Density Observed in the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Autism. *68* (4): 368-376.
- Morrison, A., Diesmann M. & Gerstner W. 2008. Phenomenological models of synaptic plasticity based on spike timing. *Biol. Cybern.* 98: 459–478.
- Mortensen, P.B., Norgaard-Pedersen B., Waltoft B.L., Sorensen T.L., Hougaard D. y Yolken R.H. 2007. Early infections of *Toxoplasma gondii* and the later development of schizophrenia. *Schizophr Bull.* 33: 741–744.
- Mosser, C. A., Baptista S., Arnoux I. y Audinat E. 2017. Microglia in CNS development: shaping the brain for the future. *Prog Neurobiol.* 150:1–20.
- Murray, K.N., Edey, M.E., Manca, M., Vernon, A.C., Oladipo, J.M., Fasolino, V., Harte, M.K., Mason, V., Grayson, B., McHugh, P.C., Knuesel, I., Prinssen, E.P., Hager, R., Neill, J.C. 2018. Evolution of a maternal immune activation (MIA) model in rats: early developmental effects, *Brain, Behavior, and Immunity*: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.09.005>
- Murthy, V. N. 1998. Synaptic plasticity: Step-wise strengthening. *Curr. Biol.* 8(18): 650-653.
- Nakanishi, S., Nakajima Y., Masu M., Ueda Y., Nakahara K., Watanabe D., Yamaguchi S., Kawabata S. & Okada M. 1998. Glutamate receptors: brain function and signal transduction. *Brain Res Brain Res Rev.*26(2-3): 230-235.
- Nash, M. S., Schell M. J., Atkinson P. J., Johnston N. R., Nahorski S. R. & Challiss R. A. J. 2002. Determinants of metabotropic glutamate receptor-5-mediated Ca²⁺ and inositol 1,4,5-trisphosphate oscillation frequency. Receptor density versus agonist concentration. *J Biol Chem.* 277(39): 35947-35960.
- Nouel, D., Burt M, Zhang Y, Harvey L., Boksa P. 2012. Prenatal exposure to bacterial endotoxin reduces the number of GAD67- and reelin-immunoreactive

- neurons in the hippocampus of rat offspring. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 22: 300–307.
- Olson, J. K. & Stephen D. M. 2004. Microglia Initiate Central Nervous System Innate and Adaptive Immune Responses through Multiple TLRs. *J Immunol.* 173: 3916-3924.
- Oliet, S. H., Malenka R. C. and Nicoll R. A. 1997. Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron.* 18: 969–982.
- Ozawa, S., Kamiya H. & Tsuzuki K. 1998. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol.* 54: 581–618.
- Patrich, E., Piontkewitz Y., Peretz A., Weiner I. & Attali B. 2016. Maternal immune activation produces neonatal excitability defects in offspring hippocampal neurons from pregnant rats treated with poly I: C. *Scientific Reports.* 6: 19106
- Patterson, P.H. 2009. Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. *Behav Brain Res.* 204: 313–321.
- Perry, A.K., Chen G., Zheng D., Tang H., Cheng G. 2005. The host type I interferon response to viral and bacterial infections. *Cell Res.* 15(6): 407- 422.
- Petralia, R. S., Wano Y. X., Niedzielski A. S. & Wenthold R. J. 1996. The metabotropic glutamate receptors, mGluR2 and mGluR3, show unique postsynaptic, presynaptic and glial localizations. *Neurosci.* 71: 949–976.
- Pfister, J. P. & Gerstner W. 2006. Triplets of spikes in a model of spike timing-dependent plasticity. *J. Neurosci.* 26: 9673–9682.
- Piontkewitz, Y., Arad M. y Weiner I. 2011. Risperidone administered during asymptomatic period of adolescence prevents the emergence of brain structural pathology and behavioral abnormalities in an animal model of schizophrenia. *Schizophr Bull.* 37: 1257– 1269.

- Pozzo Miller, L. D., Petrozzino J. J., Connor J. A. 1995. G protein-coupled receptors mediate a fast excitatory postsynaptic current in CA3 pyramidal neurons in hippocampal slices. *J Neurosci.* 15: 8320–8330.
- Quesada, Y. D., Arce-Soto E., Ramírez K., Fornaguera-Trías J. y Mora-Gallegos A. 2016. El papel de la microglía en la señalización neuroinflamatoria y la respuesta neuroinmune.neurobiologia. publicado en línea www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2016/16/16.html
- Qureshi, S. T., Lariviere L., Leveque G., Clermont S., Moore K. J., Gros P., Malo D. 1999. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). *J. Exp. Med.* 189: 615.
- Reisinger, S., Khan D., Kong E., Berger A., Pollak A., Pollak D.D. 2015. 123.The poly(I:C)-induced maternal immune activation model in preclinical neuropsychiatric drug discovery. *Pharmacol Ther.* 149: 213-26.
- Rollenhagen, A. and Lübke J. H. R. 2010. The mossy fiber bouton: the “common” or the “unique” synapse? *Front. Neurosci.* 2(2): 1-8.
- Rott, R., Herzog S., Fleischer B., Winokur A., Amsterdam J., Dyson W. y Koprowski H. 1985. Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders. *Science.* 228: 755–756.
- Salter, M.W. y Stevens B. 2017. Microglia emerge as central players in brain disease. *Nat Med.* 23: 1018–1027.
- Sarlus, H. y Heneka M. T. 2017. Microglia in Alzheimer’s disease. *J Clin Invest.* 127:3240–3249.
- Scanziani, M., Salin P. A., Vogt K. E., Malenka R. C. & Nicoll R. A. 1997. Use-dependent increases in glutamate concentration activate presynaptic metabotropic glutamate receptors. *Nature.* 385: 630–634.

- Schneggenburger, R., Sakaba T. & Neher E. 2002. Vesicle pools and short-term synaptic depression: Lessons from a large synapse. *Trends in Neurosciences*. 25(4): 206–212.
- Schultz, H., Hume J., Zhang D.S., Gioannini T.L., Weiss J.P. 2007. A novel role for the bactericidal/permeability increasing protein in interactions of gram-negative bacterial outer membrane blebs with dendritic cells. *J Immunol*. 179(4): 2477-2484
- Senter, K. R., Ghoshal A., Walker A. G., Xiang Z., Niswender C. M. & Conn J. P. 2016. The Role of mGlu Receptors in Hippocampal Plasticity Deficits in Neurological and Psychiatric Disorders: Implications for Allosteric Modulators as Novel Therapeutic Strategies. *Curr Neuropharmacol*. 14: 455-473.
- Seo, J., Kim K., Jang S., Han S., Choi S. Y. & Kim E. 2012. Regulation of hippocampal long-term potentiation and long-term depression by diacylglycerol kinase ζ . *Hippocampus*. 22: 1018–1026.
- Shrikant, P. y Benveniste E. 1996. The Central Nervous System as an immunocompetent organ: role of glial cells in antigen presentation. *J Immunol*. 157: 1819- 1822.
- Smith, S.J. & Augustine G.J., 1988. Calcium ions, active zones and synaptic transmitter release. *Trends in Neurosciences*, 11(10), pp.458–464.
- Solek, M.C., Farooqi N., Verly M., Lim T.K. y Ruthazer E.S. 2018. Maternal Immune Activation in Neurodevelopmental Disorders. *Developmental dynamics*. 247: 588–619.
- Sommer, C. y White F. 2010. Cytokines, Chemokines, and Pain, en: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. – *Pharmacology of Pain*. 1: 279-302.
- Stevens, C.F. & Wang Y. 1995. Facilitation and depression at single central synapses. *Neuron*. 14(4): 795–802.

- Suzuki, E. & Okada T. 2010. Group I metabotropic glutamate receptors are involved in TEA-induced long-term potentiation at mossy fiber–CA3 synapses in the rat hippocampus. *Brain Research*. 1313: 45-52.
- Takeda, K., T. Kaisho, and S. Akira. 2003. Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 21: 335.
- Tanabe, Y., Masu M., Ishii T., Shigemoto R. & Nakanishi S. 1992. A family of metabotropic glutamate receptors. *Neuron*. 8: 169–179.
- Tobias, S. P., Soldau K., & Ulevitch J. R. 1986. Isolation of a Lipopolysaccharide-Binding acute phase reactant from rabbit serum. *The Rockefeller University Press – 164: 777-793.*
- 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.
- Traynelis, S. F., Wollmuth L. P, McBain C. J., Menniti F. S., Vance K. M., Ogden K. K. Kasper B., Hansen K. B., Yuan H., Myers S. J. & Dingledine R. 2010. Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacol Rev.* 62: 405–496.
- Volk, L. J., Daly C. A. and Huber K. M. 2006. Differential roles for group 1 mGluR subtypes in induction and expression of chemically induced hippocampal long-term depression. *J. Neurophysiol.* 95: 2427–2438.
- Waldeck, R.F., Pereda A. & Faber D.S. 2000. Properties and plasticity of paired-pulse depression at a central synapse. *J. Neurosci.* 20(14): 5312–5320.
- Wang, C.C., Wu C.H., Shieh J.Y. y Wen C.Y. 2002. Microglial distribution and apoptosis in fetal rat brain. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 139: 337–342.
- Wasserman, S.A. 1993. A conserved signal transduction pathway regulating the activity of the Rel-like proteins dorsal and NF-kB. *Mol. Biol. Cell.* 4: 767–771.

- Wei, L, Simen A, Mane S, Kaffman A. 2012. Early life stress inhibits expression of a novel innate immune pathway in the developing hippocampus. *Neuropsychopharmacology*. 37: 567–580.
- Weisskopf, M. G., Castillo P. E., Zalutsky R. A. & Nicoll R. A. 1994. Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by cyclic AMP. *Science*. 265: 1878–1882.
- Wenthold, R. J., Petralia R. S., Blahos I. J. & Niedzielski A. S. 1996. Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J Neurosci*. 16(6): 1982-9.
- Wischhof, L., Irrsack E., Osorio C., Koch M. 2015. Prenatal LPS-exposure – a neurodevelopmental rat model of schizophrenia – differentially affects cognitive functions, myelination and parvalbumin expression in male and female offspring *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 57: 17–30.
- Wright, S.D., Ramos R.A., Tobias P.S., Ulevitch R.J., Mathison J.C. 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*. 249(4975): 1431-1433.
- Xiao, M. Y., Zhou Q. and Nicoll R. A. 2001. Metabotropic glutamate receptor activation causes a rapid redistribution of AMPA receptors. *Neuropharmacology* 41: 664–671.
- Yolken, R.H., Dickerson F.B. y Fuller T. E. 2009. Toxoplasma and schizophrenia. *Parasite Immunol*. 31: 706–715.
- Yong-Chen, L., Wen-Chen Y., Ohashi P. S. 2008. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*. 42 (2): 145-151.
- Zhang, Z. & van Praag H. 2015. Maternal immune activation differentially impacts mature and adult-born hippocampal neurons in male mice. *Brain, Behavior, and Immunity*. 45: 60–70.

- Zhao, Q., Wang Q., Wang J., Tang M., Huang S., Peng K., Han Y., Zhang J., Liu G., Fang Q. & You Z. 2019. Maternal immune activation-induced PPAR γ -dependent dysfunction of microglia associated with neurogenic impairment and aberrant postnatal behaviors in offspring. *Neurobiology of Disease*. 125: 1–13.
- Zola-Morgan, S. & Squire, L. R. 1990. The primate hippocampal formation: Evidence for a time-limited memory storage. *Science*. 250: 288-290.
- Zucker, R.S. & Regehr W.G. 2002. Short-Term Synaptic Plasticity. *Annual Review of Physiology*. 64(1): 355–405.