

Plasticidad sináptica y epileptogénesis

Rafael Gutiérrez*

Summary

The repetitive chemical or electrical stimulation of several structures of the limbic system induces a progressive enhancement of their excitability which propagates to other regions of the central nervous system, leading to the apparition of generalized convulsive seizures. This phenomenon has been termed "kindling" and is one of the most used models of experimental epilepsy. The growing excitability induced through this procedure implies changes in synaptic transmission that modify the excitation-inhibition balance of neuronal circuits. Kindling induces anatomical and functional changes that resemble those present in patients of temporal lobe epilepsy, with the advantage that they can be studied as they emerge. In human epilepsy and in several experimental models of epilepsy, it has been shown that the granule cells of the dentate gyrus are the neuronal elements more affected by the sustained state of hyperexcitability. Changes in the intrinsic properties of the membrane in the transduction of synaptic signals, in the quantity of neurotransmitter released, in the sprouting of their axons and in the regulation of receptors to different neurotransmitters have all been observed. Also, as we describe, the possibility exists that these glutamatergic cells might also release GABA after the sustained state of hyperexcitability. This change might represent the emergence of an inhibitory protective mechanism and provides the nervous system with a powerful mechanism that might control the spread of excitatory information.

Key words: Synapsis, epilepsy, plasticity, corelease, GABA, glutamate.

Resumen

El *kindling* es un modelo de epilepsia experimental y consiste en la estimulación repetida, eléctrica o química, sobre diversas estructuras del sistema límbico que produce un incremento progresivo de su excitabilidad que se propaga a otras regiones del sistema nervioso central hasta culminar en crisis convulsivas generalizadas. Este creciente estado de excitabilidad supone cambios en la transmisión sináptica que modifican el balance excitación-inhibición de circuitos neuronales y cambios anatomofuncionales que se asemejan a los que se presentan en la epilepsia del lóbulo temporal en el hombre y que pueden ser estudiados conforme se desarrollan, tanto en estudios realizados con diferentes modelos de epilepsia ex-

perimental como en la epilepsia en el hombre, se ha mostrado que en las células granulares del giro dentado se presentan el mayor número de cambios plásticos derivados del estado sostenido de hiperexcitabilidad. Se han descrito cambios en las propiedades intrínsecas de la membrana, en la transducción de señales sinápticas, en la cantidad de neurotransmisores liberados, en la ramificación de las terminales sinápticas y en la regulación de los receptores a diferentes neurotransmisores. Más aún, hemos mostrado la posibilidad de que estas células cambien su fenotipo. Estas células son glutamatérgicas y se vuelven capaces de liberar también GABA después de la presencia de un estado sostenido de hiperexcitabilidad. Esto puede ser parte de la emergencia de un mecanismo inhibitorio, lo que daría al sistema nervioso un poderoso mecanismo de control de la propagación de la transmisión de información cuya emergencia es debida a la actividad misma del sistema.

Palabras clave: Sinapsis, epilepsia, coliberación, GABA, glutamato.

Es conocido que las neuronas liberan en todas sus terminales un solo neurotransmisor, excitatorio o inhibitorio, de bajo peso molecular, y generalmente, se colibera un péptido de alto peso molecular. Las células granulares del giro dentado del hipocampo proyectan, vía las fibras musgosas, a las células piramidales de la región CA3 y las excitan al liberar glutamato. Estas fibras musgosas coliberan además dinorfina y Zn⁺⁺. Al mismo tiempo, estas fibras musgosas excitan interneuronas GABAérgicas, que a su vez, inhiben a células piramidales (Miles, Wong, 1987).

La estimulación repetida, eléctrica o química, de diversas estructuras del sistema límbico produce un incremento progresivo de su excitabilidad, que se propaga a otras regiones del sistema nervioso central hasta culminar en crisis convulsivas generalizadas. A este fenómeno se le denomina *kindling* (Goddard y cols., 1969), palabra inglesa que podríamos traducir como «encendido». Este incremento progresivo de la excitabilidad neuronal es reflejo de un incremento progresivo de la transmisión sináptica excitatoria e inhibitoria, y de cambios en las propiedades intrínsecas de las neuronas que no están relacionadas directamente con el efecto de los neurotransmisores liberados (excitatorio o inhibitorio), pero sí con la integración o interpretación

* Laboratorio de Neurofisiología. Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, 14370 México, D.F. Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN.

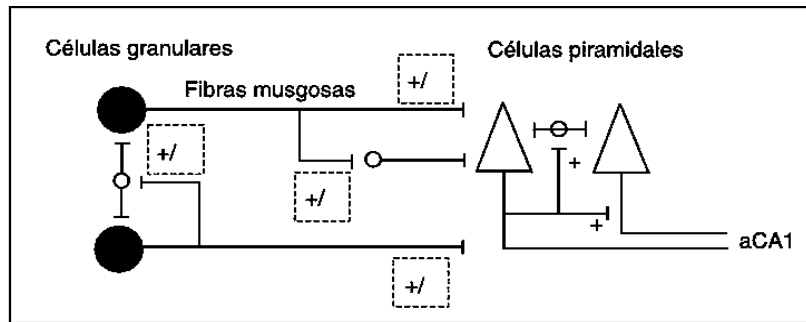


Figura 1. Diagrama del circuito giro dentado-CA3 del hipocampo. Las células granulares proyectan a las células piramidales vía las fibras musgosas, que son glutamatérgicas (+). Estas excitan tanto a las células piramidales como a interneuronas inhibitorias locales. Después de terminado el procedimiento de *kindling*, las fibras musgosas son capaces de liberar simultáneamente glutamato y GABA (\pm), modificando el balance excitación/inhibición del circuito.

de las señales sinápticas. Estos fenómenos representan lo que conocemos como plasticidad neuronal.

Tanto el incremento en la transmisión sináptica excitatoria, en la que el neurotransmisor más importante es el glutamato, como el decremento de la transmisión inhibitoria, en la que el neurotransmisor más importante es el GABA, daría como resultado un predominio de efectos excitatorios. Sin embargo, con el uso de diferentes modelos experimentales de epilepsia, incluyendo al *kindling*, se ha encontrado un aumento de la transmisión sináptica excitatoria e inhibitoria (Mody, Heinemann 1987; Kraus y cols 1994; Empson, Jefferys, 1993; Sloviter, 1987, 1991). Asimismo, se han encontrado cambios morfológicos que sugieren un aumento de conexiones sinápticas excitatorias (Babb y col., 1991; Isokawa y cols, 1993; Represa y cols., 1993; Cavazos, Sutula, 1990; Qiao, Noebels, 1993), que a su vez activan tanto a las neuronas excitatorias como a las interneuronas inhibitorias. Esto implica que, si bien el incremento de la transmisión sináptica excitatoria es necesario, no sería del todo suficiente para que el balance excitación/inhibición se inclinará a favor de la hiperexcitabilidad.

La modulación de este balance excitación/inhibición depende de una serie de mecanismos que actúan en concierto y que, en el caso del *kindling*, son alterados progresivamente hasta dar como resultado un franco estado de hiperexcitabilidad generalizado del sistema nervioso. Este modelo de epilepsia experimental es un modelo de plasticidad sináptica de larga duración cuyo alcance se extiende más allá de un estado patológico crónico, convirtiéndolo en una herramienta que permite estudiar la progresión de los cambios anatómo-funcionales de larga duración (Mody, Soltesz, 1993).

Si bien el procedimiento del *kindling* produce una serie de cambios a nivel molecular, morfológico y funcional en el sistema nervioso central, es sorprendente la especificidad de las vías neuronales en la que éstos se presentan. En especial, es en el giro dentado del hipocampo donde se observa una confluencia de estas modificaciones a varios niveles: liberación simultánea de GABA y glutamato (Gutiérrez, Heinemann, 1997); alteraciones de los efectos, metabolismo y con-

tenidos del Zn^{++} (Buhl y cols., 1996; McGinty y cols., 1988), expresión de neurotrofinas (Gall, Isackson, 1989; Sato y cols., 1996), inducción de arborización de fibras musgosas (*sprouting*; Babb y cols., 1991 Isokawa y cols., 1993; Represa y cols., 1993; Cavazos, Sutula, 1990; Qiao, Noebels, 1993), cambios en contenido y liberación de péptidos opioides (Vindrola y cols, 1981 Talavera y cols, 1989; McGinty y cols, 1988); inducción de genes inmediatos tempranos (Dragunow, Robertson; 1987), regulación y transcripción de genes de los péptidos opioides y factores de transcripción (Przewlocki y cols., 1995), cambios en la homeostasis del Ca^{++} y de flujos iónicos (Mody, 1993; Mody, Staley, 1994), expresión de GAD y GABA en células granulares (Schwarzer y Sperk, 1995; Lehmann y cols., 1996; Sloviter y cols, 1996), etc. Esta serie de cambios en el giro dentado, además de cobrar importancia por el hecho de subyacer varios procesos patológicos, hacen de la sinapsis formada por las fibras musgosas con las células piramidales de CA3 un modelo idóneo para el estudio de la plasticidad neural.

Los cambios en los niveles de neurotransmisores y neuromoduladores liberados, así como de sus respectivos receptores, han sido observados en diferentes modelos de epilepsia experimental, sin embargo, la neurotransmisión rápida no parece sufrir grandes cambios. Nuestros resultados indican que después de completado el procedimiento del *kindling*, es decir, una vez que el animal experimental presenta crisis convulsivas generalizadas, las células granulares del giro dentado del hipocampo son capaces de liberar simultáneamente GABA y glutamato que sirven a la transmisión sináptica rápida no sólo con gran significado para esta patología sino de gran relevancia para entender los mecanismos de la plasticidad sináptica.

En animales control, el bloqueo de los receptores al glutamato por medio de NBQX y APV, bloqueadores de los receptores tipo AMPA/Kainato y NMDA respectivamente, suprimen completamente las respuestas sinápticas de las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo producidas por estimulación del giro dentado. Es decir, se bloquea tanto la acción excitatoria monosináptica DG-CA3 como los potenciales postsin-

nápticos inhibitorios producidos por la excitación directa de las interneuronas inhibitorias locales, que a su vez inhiben a las células piramidales. En animales que han presentado crisis convulsivas, por medio del bloqueo de los receptores al glutamato, se suprimen completamente los potenciales excitatorios que se producían, directamente en las células piramidales, sin embargo, persiste un potencial postsináptico inhibitorio de corta latencia. Este IPSP es bloqueado con bicuculina y su potencial de inversión es similar al de los IPSPs producidos por una estimulación directa de las interneuronas inhibitorias locales, siendo un fuerte potencial producido por la liberación de GABA, el cual proviene directamente de las fibras musgosas (fig. 1).

Además de este cambio en la transmisión sináptica entre las células granulares y piramidales, que implican la coliberación de GABA y glutamato de una neurona que inicialmente era únicamente glutamatergica, aparece un EPSP lento al bloquear el IPSP farmacoló-

gicamente aislado que proviene de las fibras musgosas. Este EPSP lento es sensible al \pm MCPG, bloqueador de los receptores metabotrópicos del glutamato.

La posibilidad de que una neurona cambie su fenotipo y, que de ser glutamatergica eventualmente, sea capaz de coliberar GABA debido a los propios cambios de su actividad, provee al sistema nervioso de un poderoso mecanismo de control de transmisión de la información. Más aún, pudiera ser parte de un mecanismo inhibitorio que emerge conforme el sistema incrementa su susceptibilidad para generar crisis convulsivas. Además, no puede descartarse que su emergencia sea probablemente uno de los factores que incluso contribuya a incrementar la excitabilidad por medio de un aumento en la inhibición. El desarrollo de este posible mecanismo debe ser caracterizado, ya que aún no es claro, si la presencia de las crisis convulsivas son la condición para su expresión, o el aumento progresivo de la excitabilidad sea suficiente para generar esta respuesta del sistema.

REFERENCIAS

- BABB TL, KUPFER WR, PRETORIUS JK, CRANDALL PH, LEVESQUE MF: Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. *Neuroscience*, 42:351-363, 1991.
- BUHL EH, OTIS TS, MODY I: Zinc-induced collapse of augmented inhibition by GABA in a temporal lobe epilepsy model. *Science*, 271:369-373, 1996.
- CAVAZOS JE, SUTULA TP: Progressive neuronal loss induced by kindling: a possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Res*, 527:1-6, 1990.
- CLAIBORNE BJ, REA MA, TERRIAN DM: Detection of zinc in isolated nerve terminals using a modified Timm's sulfide-silver method. *J Neurosci Meth*, 30:17-22, 1989.
- DRAGUNOW M, ROBERTSON HA: Kindling stimulation induces c-fos protein(s) in granule cells of the rat dentate gyrus. *Nature*, 329:411-442, 1987.
- EMPSOM RM, JEFFERYS, JGR: Synaptic inhibition in primary and secondary chronic epileptic foci induced by intrahippocampal tetanus toxin in the rat. *J Physiol*, 465:595-614, 1993.
- GALL CM, ISACKSON PJ: Limbic seizures increase neuronal production of messenger RNA for nerve growth factor. *Science*, 247:758-761, 1989.
- GODDARD GV, MCLINTYRE DC, LEECH CK: A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *J Exp Neurol*, 25:295-330, 1969.
- GUTIERREZ R, HEINEMANN U: Glutamatergic and GABAergic neurotransmission might coexist in mossy fibre-pyramidal cell synapses following repeated stimulation (kindling) of the amygdala. Enviado para su publicación. *Nature*, 1997.
- GUTIERREZ R, HEINEMANN U: Synaptic reorganization in explanted cultures of rat hippocampus. *J Neurosci*, 1997. Enviado para su publicación.
- GUTIERREZ R, ARMAND V, SCHUCHMANN S, HEINEMANN U: Epileptiform activity and neuronal cell loss induced by low Mg²⁺ in cultured rat hippocampal slices. *Hippocampus*, 1997. Enviado para su publicación.
- Isokawa M, Levesque MF, Babb TL, Engel J: Single mossy fiber axonal systems of human dentate granule cells studied in hippocampal slices from patients with temporal lobe epilepsy. *J Neurosci*, 13:1511-1522, 1993.
- KRAUS JE, YEH GCH, BONHAUS DW, NADLER JV, MCNAMARA JO: Kindling induces the longlasting expression of a novel population of NMDA receptors in hippocampal region CA3. *J Neurosci*, 14:4196-4205, 1994.
- LEHMANN H, EBERT U, LOSCHER W: Immunocytochemical localization of GABA immunoreactivity in dentate granule cells of normal and kindled rats. *Neurosci Lett*, 212:41-44, 1996.
- MCGINTY, JF, KANAMATSU T, HONG JS, MORTON JD, FREDERICKSON CJ: Seizure-induced alterations of opioid peptide and zinc metabolism in the hippocampus of rats. En: *Nutritional Modulation of Neural Function*. Academic Press, 1988.
- MILES RY, WONG RKS: Inhibitory control of local excitatory circuits in the guinea pig hippocampus. *J Physiol*, 388:611-629, 1987.
- MODY I, HEINEMANN U: N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors of dentate gyrus granule cells participate in synaptic transmission following kindling. *Nature*, 326:701-704, 1987.
- MODY I, SOLTESZ I: Activity-dependent changes in structure and function of hippocampal neurons. *Hippocampus*, 3(special issue):99-112, 1993.
- MODY I, STALEY KJ: Cell properties in the epileptic hippocampus. *Hippocampus*, 4(3):275-280, 1994.
- PRZEWLOCKI R, KAMINSKA B, LUKASIU K, NOWICKA DZ, PRZEWLOCKA B, KACZMAREK L, LASON W: Seizure related changes in the regulation of opioid genes and transcription factors in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *Neuroscience*, 68(1):73-81, 1995.
- QIAO X, NOEBELS JL: Developmental analysis of hippocampal mossy fiber outgrowth in a mutant mouse with inherited spike-wave seizures. *J Neurosci*, 13:4622-4635, 1993.
- RACINE R: Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 32:281-294, 1972.
- REPRESA A, JORQUERA I, LE GAL LA SALLE G, BENARI Y: Epilepsy induced collateral sprouting of hippocampal mossy fibers: does it induce the development of ectopic synapses with granule cell dendrites? *Hippocampus*, 3:257-268, 1993.
- SATO K, KASHIHARA K, MORIMOTO K, HAYABARA T: Regional increases in brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor mRNAs during amygdaloid kindling, but not in acidic and basic fibroblast growth factor mRNAs. *Epilepsia*, 37(1):6-14, 1996.

25. SCHWARZER C, SPERK G: Hippocampal granule cells express glutamic acid decarboxylase-67 after limbic seizures in the rat. *Neuroscience*, 69:705-709, 1995.
26. SLOVITER RS: Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science*, 235:73-76, 1987.
27. SLOVITER RS: Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the "dormant basket cell" hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*, 1(1):41-66, 1991.
28. SLOVITER RS, DICHTER MA, RACHINSKY TL, DEAN E, GOODMAN JH, SOLLAS AL, MARTIN DL: Basal expression and induction of glutamate decarboxylase and GABA in excitatory granule cells of the rat and monkey hippocampal dentate gyrus. *J Comp Neurol*, 373:593-618, 1996.
29. TALAVERA E, OMAÑA-ZAPATA I, ASAI M, CONDES-LARA M: Regional brain IR-Met-, IR-Leu-enkephalin concentration during progress and full electrical amygdaloid kindling. *Brain Res*, 485:141-148, 1989.
30. TAUPIN P, ZINI S, CESSÉLIN F, BEN-ARI Y, ROISIN MP: Subcellular fractionation on percoll gradient of mossy fiber synaptosomes: morphological and biochemical characterization in control and degranulated rat hippocampus. *J Neurochem*, 62:1586-1595, 1994.
31. TERRIAN DM, JOHNSON D, CLAIBORNE BJ, ANSAH-YIADOM R, STRITTMATTEY WJ, REAMA: Glutamate and dynorphin release from a subcellular fraction enriched in hippocampal mossy fiber synaptosomes. *Brain Res Bull*, 21:343-351, 1988.
32. VINDROLA O, BRIONES R, ASAI M, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: Brain content of leu5 and met5-enkephalin changes independently during the development of kindling in the rat. *Neurosci Lett*, 26:125-130, 1981.