

La Actividad Embrionaria Espontánea de las Redes Neuronales y su Función en la Maduración Sináptica.

Embryonic Spontaneous Network Activity And Its Role On Synaptic Development.

Carlos González-Islas,¹ Miguel Angel García-Bereguai²

Resumen

Los circuitos neuronales embrionarios poseen propiedades transitorias que originan una forma especial de actividad eléctrica conocida como Actividad Embrionaria Espontánea (AEE). La AEE se manifiesta tan pronto como las conexiones sinápticas se establecen, y consiste en descargas de potenciales de acción que ocurren sincrónicamente en la mayoría de las neuronas que componen el circuito, seguidas por largos periodos silentes en donde la excitabilidad se recupera paulatinamente para poder generar un nuevo episodio. Este tipo de actividad neuronal permite un alto grado de sincronización entre las neuronas de los circuitos en desarrollo y contribuye a la construcción y maduración sinápticas. Diversas regiones del sistema nervioso embrionario de los vertebrados presentan AEE ya que su manifestación depende de propiedades que comparten la mayoría de las redes neuronales en desarrollo: una conectividad intercelular redundante y el hecho de que el neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico (GABA) es excitatorio durante el desarrollo embrionario (En el sistema nervioso adulto GABA es inhibitorio). En esta revisión discutimos la idea de que la presencia de AEE podría contribuir a establecer la fuerza sináptica de las sinapsis glutamatérgicas y GABAérgicas en un momento en el que ambas comparten una naturaleza excitadora, utilizando un mismo mecanismo de plasticidad sináptica conocido como plasticidad homeostática.

Palabras clave: Actividad embrionaria espontánea, plasticidad homeostática, desarrollo embrionario.

Abstract

Embryonic neural networks exhibit a temporary special form of electrical activity known as Spontaneous Network Activity (SNA). SNA occurs as soon as synaptic connections are established and consists on synchronized action potential firing for most of the neurons on the network, followed by long silents periods where network excitability is gradually recovered till a new SNA episode can happen. This kind of neural activity allows a high level of synchronization among neurons on developing networks, contributing to synaptic connection and maturation. SNA has been described in several regions of the developing nervous system due to conserved properties among developing neural networks: redundant intercellular connectivity and the fact that the neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA) is excitatory during early embryonic development (GABA is inhibitory in the adult nervous system). In this review we discuss the hypothesis that SNA contributes to synaptic strength for glutamatergic and gabaergic synapsis while both of them are excitatory, by using the same synaptic plasticity mechanism known as homeostatic plasticity.

Keywords: Spontaneous network activity, homeostatic plasticity, embryonic development.

Rev. Ecuat. Neurol. Vol. 28, N° 1, 2019

Introducción

En el transcurso del desarrollo embrionario, los circuitos neuronales deben alcanzar un nivel preciso de excitabilidad. Esto es un logro admirable si consideramos los enormes retos a los que dichos circuitos se enfrentan, ya que el sistema nervioso (SN) se desarrolla en medio de constantes cambios en el número, la anatomía, la loca-

lización y las propiedades de las neuronas que lo constituyen y de la conectividad que establecen entre sí. Sin embargo, en algunas ocasiones puede ocurrir que dicho nivel adecuado de excitabilidad no se alcance o bien se sobrepase y dando origen a convulsiones y otras manifestaciones de hiperexcitabilidad anormal en el recién

¹MSc. PhD candidate, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA (USA).
Doctorado en Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Tlaxcala.
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta. Tlaxcala, México.

²PhD, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de las Américas. Quito (Ecuador).
Laboratorio de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Vida.
Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil (Ecuador).

Correspondencia:
Miguel Angel García-Bereguai
E-mail: magbereguai@gmail.com

nacido. En particular, la incidencia de convulsiones es particularmente alta en los recién nacidos y su presencia podría indicar disfunciones neurológicas que pueden derivar en discapacidades motoras o cognitivas.^{1,2} De ahí la enorme importancia que tiene el estudiar los procesos embrionarios que contribuyen a establecer las propiedades funcionales de las sinapsis en el SN en desarrollo. En este artículo de revisión, los autores detallan diferentes aspectos de los mecanismos moleculares de plasticidad sináptica homeostática que modulan la maduración de las sinapsis durante el desarrollo y su relación con la actividad embrionaria espontánea. Con nuestra experiencia de más de una década en el campo de estudio con diversas publicaciones en el dicho área de conocimiento, discutimos nuestras aportaciones así como detallamos un total de 34 referencias bibliográficas en revistas internacionales de alto impacto que a nuestro juicio son fundamentales para definir el estado del arte de la relación entre plasticidad sináptica homeostática y la actividad embrionaria espontánea, accesibles todas ellas a través de bases de datos reconocidas como PubMed o Scopus.

Conexiones Sinápticas

Por su modo de funcionamiento las sinapsis son de dos tipos: eléctricas y químicas. En las sinapsis eléctricas las señales nerviosas se transmiten directamente mediante la transferencia de carga eléctrica de una neurona a la otra a través de los pequeños poros de las uniones en hendidura (gap-junctions); en estas sinapsis la transmisión es instantánea y en general bi-direccional, pero resultan difícil de regular. Por otro lado, las sinapsis químicas son más versátiles y tienen mayores posibilidades de modulación pues el paso de las señales eléctricas requiere la mediación de mensajeros químicos conocidos como neurotransmisores que, al ser liberados por las neuronas presinápticas, se unen a receptores específicos ubicados en la membrana de las neuronas postsinápticas. La unión del neurotransmisor a su receptor induce cambios conformacionales en éste que le permite conducir corrientes iónicas y con esto transmitir la excitabilidad. En general, la naturaleza excitatoria o inhibitoria de la transmisión entre neuronas depende de la clase de neurotransmisores que la neurona presináptica libere, de la clase de receptores presentes en la membrana postsináptica y de la diferencia entre el potencial de reposo de la membrana y el valor del potencial de equilibrio de la corriente iónica inducida (fuerza electromotriz para los iones permeantes). Como se explicará más adelante las modificaciones en el potencial de equilibrio para los iones que permean a través de los receptores postsinápticos son de gran importancia en el proceso de maduración sináptica.

El establecimiento del balance funcional entre sinapsis excitadoras e inhibitoras debe sortear dos obstáculos primordiales: en primer término, durante el desa-

rollo se forman muchas más conexiones sinápticas de las que finalmente se establecen y operan en el SN maduro; de ahí que en algún momento de la maduración sináptica deben eliminarse las conexiones redundantes.³ Otro reto lo plantea el hecho de que el GABA, que es el principal neurotransmisor inhibitorio en el SN adulto, actúa como neurotransmisor excitador durante gran parte del periodo embrionario.^{4,5} El GABA excita a las neuronas inmaduras porque estas acumulan iones cloruro (que son los iones permeantes a través de los receptores ionotrópicos sensibles al GABA) concentrándolos en el interior celular. Cuando el GABA activa a su receptor, las cargas negativas del cloruro salen de la célula a través de los receptores al GABA y depolarizan a la membrana. En contraste, en las neuronas adultas existen sistemas transportadores de cloruro capaces de establecer una concentración intracelular tan baja que se invierte el sentido del flujo iónico a través de los receptores ionotrópicos del GABA, lo que provoca la hiperpolarización de la membrana postsináptica, convirtiendo al GABA en un neurotransmisor inhibitorio.⁶ La redundancia en el número de conexiones sinápticas y el hecho de que tanto la neurotransmisión glutamatérgica como la GABAérgica sean excitadoras se conjugan para crear la hiperexcitabilidad que es una de las características más notables de las redes neuronales en desarrollo.⁶

Actividad neuronal y la maduración de las conexiones sinápticas

Tradicionalmente, se distinguen dos fases en el desarrollo de los circuitos neuronales. Una primera fase, donde diferentes factores tróficos dirigen la expresión de genes implicados en procesos de proliferación, migración y diferenciación neuronal, sin que la excitabilidad del sistema tenga ninguna implicación. En una segunda fase la actividad nerviosa evocada por señales provenientes de los órganos de los sentidos dirige el proceso de refinamiento de la conectividad redundante inicial.⁷ Esta visión ha sido modificada por evidencias más recientes que indican que la actividad neuronal intrínseca de los circuitos afecta el desarrollo de los mismos desde estadios mucho más tempranos. Por ejemplo, se ha descrito que bloqueando la actividad química y eléctrica en neuronas inmaduras se trastornan procesos tales como el establecimiento del fenotipo neuronal⁸ o la expresión genética.⁹ Incluso otros autores sugieren que la actividad evocada por señales sensoriales sencillamente funcionaría como un agente modulador de la maduración de las sinapsis a través de su interacción con la actividad neuronal espontánea, siendo esta última la actividad neuronal más importante para la maduración sináptica.⁷

Formación de las Columnas de Dominancia Ocular como ejemplo de maduración sináptica

Un ejemplo cuyo estudio ha servido para re-evaluar

el papel de la actividad neuronal en la maduración sináptica, es el desarrollo de las llamadas columnas de dominancia ocular (CDO). Las CDO son conjuntos de neuronas de la corteza visual de diversos mamíferos, que se agrupan en columnas de entre 400 μ m y 1 mm de ancho, perpendiculares a la superficie cortical, que corren más o menos paralelas las unas a las otras formando un mosaico de zonas que responden preferencialmente a las señales provenientes de un ojo y se alternan con otras zonas que responden mayoritariamente al otro ojo.¹⁰ David Hubel y Torsten Wiesel descubrieron que ocluyendo la visión de un ojo en gatos recién nacidos, la segregación de las CDO se veía severamente distorsionada siempre y cuando dicha manipulación se realice dentro de un lapso específico del desarrollo postnatal que estos autores llamaron periodo crítico.¹⁰ Para Hubel y Wiesel este resultado indicaba que la experiencia visual era determinante para establecer la organización columnar en la corteza visual. Esta conclusión pareció ser corroborada usando las técnicas anatomofisiológicas del momento.¹¹ Sin embargo, pronto surgieron observaciones que contradecían dicha idea. Por ejemplo: no todas las especies con visión binocular presentan CDO, o usando técnicas más modernas, se ha encontrado que las CDO se empiezan a formar mucho antes del llamado periodo crítico.¹² Hoy se sabe que el desarrollo de las CDO ocurre en dos etapas: una de establecimiento inicial, que utiliza actividad neuronal intrínseca o espontánea y otra más tardía que corresponde al periodo crítico y que requiere de actividad neuronal estructurada y evocada.¹³ Antes del establecimiento de la visión, se ha descubierto la presencia de señales en la corteza visual que provienen de la retina y se ha demostrado que influyen en el refinamiento de las proyecciones de la propia retina. Estas señales son producidas por ondas depolarizantes generadas espontáneamente por una red de interneuronas colinérgicas, las células amacrinas estelares, que causan que las células ganglionares de la retina disparen ráfagas de potenciales de acción que finalmente salen de la retina para transmitirse a la corteza visual.¹⁴

Actividad Embrionaria Espontánea

Diversas formas de actividad embrionaria espontánea (AEE) como la que origina las ondas depolarizantes en la retina se han descrito en la mayoría de los circuitos en desarrollo incluyendo al hipocampo, la corteza cerebral, el tronco del encéfalo y la médula espinal¹⁵ y son una característica conspicua del SN en desarrollo. La AEE se cree sirve como fuente de depolarizaciones en los circuitos neuronales en desarrollo que contribuyen a su maduración.⁵ En la médula espinal esta actividad se manifiesta como ráfagas episódicas de potenciales de acción que duran varios segundos, seguidas por periodos silentes relativamente más prolongados llamados intervalos entre episodios (Figura 1). Los episodios de AEE son resultado

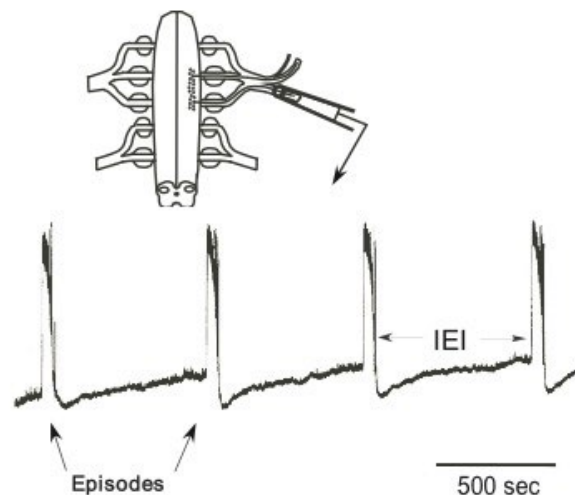


Figura 1. Trazo del registro de potencial extracelular de un nervio muscular de un embrión de pollo mostrando la ocurrencia regular de episodios de Actividad Embrionaria Espontánea (AEE) separados por los Intervalos entre Episodios (IEI). En el esquema se muestra la disposición del electrodo de succión que registra el potencial del nervio muscular en una médula espinal aislada.

de la naturaleza altamente excitable de los circuitos espinales embrionarios en los que la transmisión GABAérgica es excitadora y la conectividad es altamente redundante.¹⁵ Durante los episodios de AEE muchas neuronas disparan potenciales de acción y experimentan incrementos agudos en la concentración intracelular de calcio que resulta importante en varios aspectos del desarrollo.¹⁶ Los episodios de AEE en la médula espinal reclutan a la mayoría de las neuronas espinales incluyendo a las motoneuronas que inervan los músculos de las extremidades. La activación de estas motoneuronas se traduce en los llamados movimientos embrionarios de las extremidades (patadas fetales en el humano) que se observan en diferentes especies y se restringen a un lapso particular del desarrollo embrionario.¹⁵ Se ha demostrado que la AEE espinal es importante para dirigir los axones de las motoneuronas a sus músculos diana¹⁷ y para el desarrollo apropiado de los músculos y las articulaciones.¹⁸ En nuestro laboratorio hemos estudiado como esta actividad está relacionada con los mecanismos que determinan la fuerza de las conexiones sinápticas en la médula espinal embrionaria.¹⁹⁻²⁴

Como se ha mencionado anteriormente, los circuitos neuronales en desarrollo tienden a ser espontáneamente activos, aunque el tipo exacto de actividad depende del nivel de diferenciación de las neuronas y del grado en que éstas se establecen como redes neuronales. Por ejemplo, antes del establecimiento de las sinapsis químicas se pueden observar potenciales de acción espontáneos en células individuales u ondas de elevaciones transitorias del calcio intracelular en grupos de neuronas conectadas por sinapsis eléctricas que se coordinan a través de las uniones en hendidura.¹⁶ Tan pronto como las sinapsis químicas

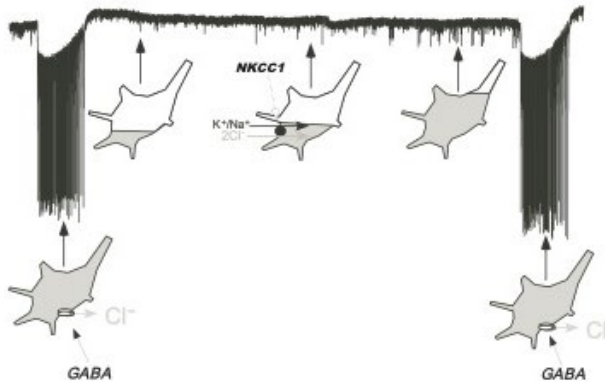


Figura 2. Episodios y modulación de la concentración de cloruro intracelular por el transportador de cloruro NKCC1. Trazo corresponde a un registro de corriente en una motoneurona bajo fijación de voltaje en la modalidad de célula completa mostrando el gradual incremento en la amplitud de las corrientes postsinápticas en miniatura durante el IeE. Los esquemas muestran la salida de cloro durante los episodios y su re-acumulación por la acción de los NKCC1 durante el IeE.

micas se establecen, aparece la AEE que es un tipo de actividad espontánea distinta que se caracteriza por estar dirigida por la red neuronal y no depender de la conectividad sináptica específica ni de la actividad de neuronas marcapasos, sino que depende exclusivamente de la neurotransmisión sináptica.¹⁵

Actividad Embrionaria Espontánea en la médula espinal en desarrollo

Inmediatamente después de un episodio de AEE, la red neuronal espinal disminuye su excitabilidad pero lentamente se recupera en el intervalo entre episodios (IeE). Varias observaciones apoyan esta conclusión: i) Los reflejos evocados al inicio del IeE son más débiles que a hacia el final²² ii) La amplitud cuántica, es decir la amplitud de las corrientes producidas por la liberación de una sola vesícula de neurotransmisor (también conocidas como corrientes postsinápticas en miniatura) disminuye inmediatamente después de un episodio y también se recupera en el curso del IeE!^{19,22} iii) Las neuronas espinales se encuentran hiperpolarizadas (aproximadamente en 10 mV) y se repolarizan progresivamente (de 0.5 a 1 mV por minuto) en el transcurso del IeE.²² Así, después del episodio las neuronas espinales se encuentran ligeramente hiperpolarizadas, la fuerza de sus sinapsis (medida por la amplitud de las corrientes postsinápticas en miniatura) en su punto más bajo y no disparan potenciales de acción. En el transcurso del IeE las neuronas gradualmente se depolarizan, la fuerza de sus sinapsis se incrementa (cada vesícula de neurotransmisor liberada evoca potenciales de mayor amplitud) y, eventualmente hacia el final del IeE, algunas alcanzan el umbral de disparo de su

potencial de acción y al incrementarse el número de motoneuronas disparando potenciales de acción, se reclutan las interneuronas que interconectan a los circuitos espinales y así, con la mayoría de las neuronas espinales reclutadas, se dispara un nuevo episodio de AEE con la misma amplitud que el anterior.²⁵

Papel de la transmisión GABAérgica en la Actividad Embrionaria Espontánea espinal

La transmisión sináptica GABAérgica ocupa un papel central en la modulación de la excitabilidad de los circuitos neuronales durante el desarrollo de la médula espinal.^{22,23,24} La fuente de la gradual depolarización que ocurre durante el IeE es una corriente GABAérgica que se fortalece progresivamente.²² A su vez, la modulación de las corrientes GABAérgicas es el resultado de la actividad del transportador de cloruro NKCC1. El cloruro intracelular sufre cambios significativos en el transcurso de la AEE (Figura 2); cuando ocurre un episodio, los receptores para el GABA se activan masivamente abriendo un flujo de cloruro que puede reducir la concentración intracelular de este ion en aproximadamente 15 mM.²² Esto desplaza el potencial de equilibrio para el cloruro a un valor mas hiperpolarizado y por lo tanto reduce la fuerza electromotriz para el flujo de dicho ion. Una vez que el episodio finaliza la concentración intracelular del cloruro comienza a aumentar gracias a la actividad de los transportadores NKCC1.²² Al aumentar la concentración de cloruro intracelular, la fuerza electromotriz para éste también se incrementa lo cual a su vez aumenta la amplitud de las corrientes GABAérgicas y como consecuencia, acerca al potencial de membrana al umbral de disparo de sus potenciales de acción!¹⁵ De esta forma, los cambios en la concentración intracelular del cloruro influyen en la periodicidad de los episodios de AEE a través de las corrientes GABAérgicas y de manera recíproca se podría decir que la AEE regula la fuerza sináptica GABAérgica, debilitándola después de un episodio y permitiendo su recuperación durante los IeE. Cabría entonces preguntarse si la AEE puede regular la fuerza sináptica a largo plazo.

Actividad neuronal en el desarrollo. Papel de la plasticidad sináptica

Como hemos mencionado anteriormente, la actividad neuronal es un factor importante en el proceso de formación y maduración de los circuitos neuronales. Pero, ¿Cuál es específicamente el papel de esa actividad? ¿Es un papel permisivo que refina las estructuras construídas por un plan predeterminado? O, ¿Es un papel constructivo que puede determinar las propiedades de las sinapsis o las conductancias iónicas de las membranas? Un primer indicio para resolver este dilema se puede encontrar en el postulado de Donald Hebb de que "las neuronas que disparan al unisono se conectan entre ellas" ("*cells that fire*

together wire together"²⁶). La plasticidad "hebbiana" se refiere a las modificaciones sinápticas de larga duración (fortaleciéndolas o debilitándolas) que son específicas de cada sinapsis y dependen de la correlación entre los disparos de potenciales de acción pre y postsinápticos.^{26,28} El principio hebbiano para la modificación uso-dependiente de la fuerza sináptica ha sido enormemente útil y constituye el mejor modelo para explicar tanto cómo se almacena la información en el SN^{26,28} y como ocurre el proceso de refinamiento de las sinapsis redundantes.^{29,30} El problema con este principio radica en su naturaleza de retroalimentación positiva, ya que las sinapsis que son efectivas para excitar a la neurona postsináptica se continúan fortaleciendo constantemente y potencialmente podrían desestabilizar las tasas de disparo de potenciales de acción incrementándolas excesivamente. Una forma de evitar este problema sería la presencia de un proceso que asegure "homeostáticamente" que la red neuronal o las células individuales permanezcan dentro de un rango fisiológicamente apropiado de actividad eléctrica. Tal mecanismo existe y ha sido llamado "plasticidad homeostática". Los mecanismos de los que se vale este proceso para cumplir su cometido son la regulación a largo plazo de la excitabilidad neuronal y la regulación de la fuerza sináptica.^{31,33}

La mayoría de los estudios realizados hasta el momento se han enfocado en los cambios compensatorios en la fuerza sináptica. Así, en cultivos neuronales, cuando los niveles de actividad se reducen o incrementan crónicamente, la fuerza de las sinapsis glutamatérgicas y GABAérgicas cambian en una dirección que busca compensar a la modificación experimental de la actividad. De esta manera, cuando se reducen los niveles de actividad experimentalmente, la fuerza sináptica de las sinapsis AMPAérgicas se incrementa y la de las GABAérgicas disminuye (en estos experimentos las corrientes GABAérgicas eran inhibitorias). Por el contrario, cuando la actividad se incrementa experimentalmente la fuerza sináptica de las sinapsis AMPAérgicas disminuye y la de las GABAérgicas aumenta.³¹ En cada caso el cambio en la fuerza sináptica actúa en la dirección que tiende a restablecer los niveles de actividad original y como consecuencia la actividad de la red neuronal puede regularse homeostáticamente a sí misma.

Plasticidad homeostática como mecanismo de maduración de las conexiones sinápticas

En nuestros estudios, hemos explorado la posibilidad de que la AEE pudiese regular de una manera homeostática la fuerza sináptica de las conexiones sinápticas de los circuitos espinales. Después de reducir la AEE en la médula espinal de embriones de pollo mediante la inyección en ovo de lidocaína (un bloqueante de los canales de sodio responsables de la fase inicial de los potenciales de acción) por dos días, la fuerza sináptica de las sinapsis

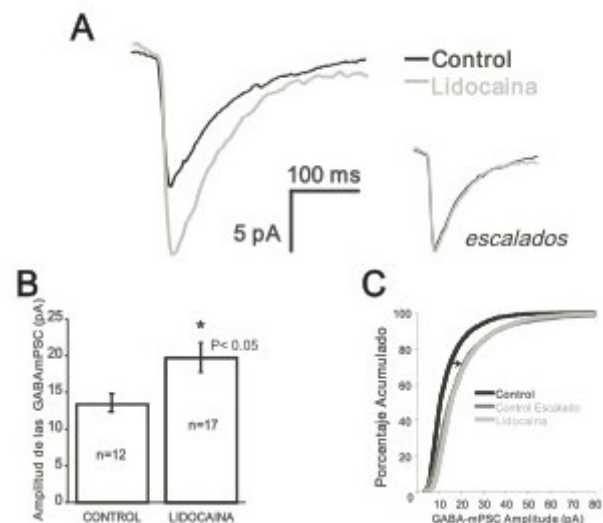


Figura 3. La amplitud de las corrientes GABAérgicas postsinápticas miniatura aumenta después de reducir crónicamente las AEE en ovo. A) Trazo promedio de las corrientes GABAérgicas postsinápticas miniatura en embriones control (línea negra) y en los tratados con lidocaína (línea gris). B) Gráfica de barras mostrando el incremento en la amplitud de las corrientes GABAérgicas postsinápticas miniatura, como medida del incremento en la fuerza sináptica en los embriones tratados con lidocaína. C) La distribución acumulativa (DA) de las amplitudes de las corrientes GABAérgicas postsinápticas miniatura en control (línea negra) puede ser "escalada por sobreponerse a la DA de las corrientes miniatura registradas en embriones tratados con lidocaína (línea gris oscura) usando un solo factor multiplicativo.

glutamatérgicas y GABAérgicas se incrementaron de manera compensatoria para aumentar la excitabilidad de la médula espinal y así mantener un nivel adecuado de AEE¹⁹ (Figura 3). Más recientemente hemos encontrado que manipulaciones experimentales que aumentan la AEE en ovo disparan a su vez la reducción compensatoria de la fuerza sináptica en ambos tipos de sinapsis.²⁰ Estos resultados son consistentes con la idea de que la plasticidad homeostática es un proceso bi-direccional en la médula espinal embrionaria, y dado que la AEE es capaz de regular coordinadamente la fuerza sináptica de todas las conexiones -puesto que todas las conexiones son excitadoras- la AEE controlaría de una forma mecanísticamente similar el balance inicial de las sinapsis excitadoras y de las que al madurar serán inhibitorias.

¿Cuáles son los mecanismos responsables de la plasticidad homeostática en la médula espinal embrionaria?

En los experimentos realizados en cultivos neuronales se han descrito cambios tanto en los receptores postsinápticos como en el contenido de neurotransmisores en la vesículas de secreción. En otros sistemas, se ha encontrado que el número de receptores, la composición de sus subunidades y su proporción relativa cambian. También se han reportado cambios en el contenido de neurotransmisor en las vesículas de secreción como

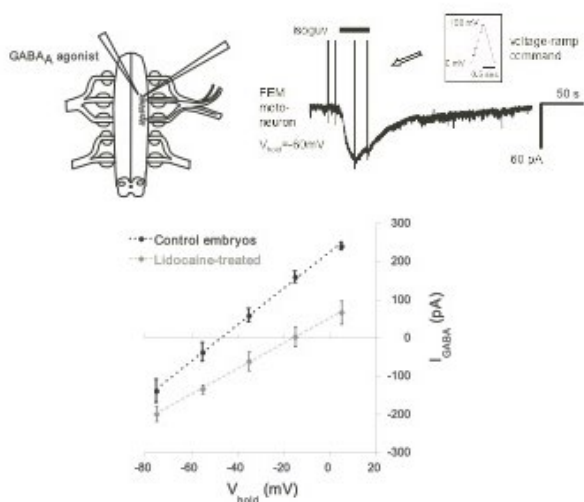


Figura 4. El potencial de equilibrio para las corrientes GABAérgicas se desplaza a un valor más depolarizado en los embriones tratados con lidocaína. Esquema mostrando la configuración empleada para registrar el potencial de equilibrio para las corrientes GABAérgicas. Los registros de corriente en motoneuronas bajo fijación de voltaje en la modalidad de "patch perforado" fueron hechos inmediatamente después de aplicar un agonista GABAérgico (isoguvaina). Rampas de voltaje se aplicaron a las motoneuronas antes y después de la aplicación del agonista para construir las curvas Corriente-Voltaje para motoneuronas control y tratadas con lidocaína. El potencial de inversión se desplazó de -46mV en controles a -15mV en los embriones tratados con lidocaína.

respuesta a las manipulaciones de la actividad de diversos circuitos.³² Nosotros hemos encontrado dos novedosos mecanismos en la médula espinal embrionaria. En el caso de las sinapsis glutamatérgicas el bloqueo crónico de la AEE dispara una substitución de los receptores glutamatérgicos nativos por un subtipo que presenta mayor conductancia (conduce más corriente cuando se activa) que además es permeable al calcio, lo que tendría además mayores consecuencias plásticas al ser el calcio un importante mensajero intracelular.²¹ En el caso de las sinapsis GABAérgicas el mecanismo para incrementar la fuerza sináptica resultó completamente inesperado. Como se ha explicado anteriormente, dado que el potencial de inversión para las corrientes GABAérgicas es modulado por la AEE, nosotros nos preguntamos si era posible que los transportadores que acumulan cloruro en el interior de las neuronas (NKCC1) fueran más numerosos o estuvieran más activos en los embriones tratados crónicamente con lidocaína que suprime la AEE. Esto aumentaría la concentración intracelular del cloruro y consecuentemente la fuerza electromotriz para este ion. Así, nosotros investigamos (Figura 4) si el potencial de inversión para las corrientes GABAérgicas se torna más depolarizado en los embriones tratados con lidocaína (esto se esperaría que sucediera si la concentración intracelular de cloruro fuera más elevada en los embriones tratados) y, en efecto,

encontramos que el mecanismo homeostático empleado para incrementar la fuerza sináptica de las sinapsis GABAérgicas es mediado por un incremento en la acumulación del cloruro que produce un desplazamiento en la dirección depolarizante del potencial de inversión de las corrientes GABAérgicas.^{24,33,34} De hecho, se han descrito desplazamientos similares del potencial de inversión para las corrientes GABAérgicas en varias patologías neuronales lo que sugiere que alteraciones en los mecanismos moleculares involucrados en la plasticidad sináptica homeostática pudieran constituir una agente etiológico de las mismas.^{32,33,34}

Conclusiones

- Los circuitos neuronales en desarrollo exhiben propiedades transitorias que dan origen a una forma de actividad periódica y altamente integrada llamada Actividad Embrionaria Espontánea (AEE).
- La AEE permite un alto grado de sincronización entre las neuronas de un circuito neuronal y puede participar en la construcción y maduración de sus conexiones sinápticas.
- Mediante la plasticidad homeostática, la AEE en la médula espinal puede regular la fuerza de las sinapsis espinales de manera que se mantengan los niveles de actividad apropiados para el correcto desarrollo de las extremidades.
- Al ajustar coordinadamente las fuerzas sinápticas de las sinapsis GABAérgicas y glutamatérgicas, la AEE está en posición de dirigir un desarrollo inicial balanceado de los sistemas excitadores e inhibidores en un periodo en el que ambos comparten una naturaleza depolarizante.
- Finalmente, destacar que pese a las evidencias acumuladas en la bibliografía en apoyo a las conclusiones descritas, si bien hay consenso en cuanto a la implicación de la AEE y la maduración sináptica, hoy existen algunas discrepancias sobre los mecanismos moleculares involucrados a nivel de las sinapsis. La limitación fundamental para muchos de estos estudios es que han sido desarrollados en modelos in vitro (con excepciones como los experimentos de dominancia ocular descritos). Además, son necesarias investigaciones futuras para determinar la implicación de la alteración de los mecanismos de plasticidad homeostática tanto en neuropatologías del desarrollo como en adultos.

Rerferencias

1. Pisani F, Cerminara C, Fusco C, y Sisti L. Neonatal status epilepticus vs recurrent neonatal seizures: clinical findings and outcome. *Neurology*. 2007. 69(23): 2177–2185.

2. Yépez Erazo I, Zambrano Arteaga J and Dr. Vásquez González E. Estudio de ochenta pacientes con Epilepsia Benigna de la Niñez con Espigas Centrotemporales. *Rev. Ecuat. Neurol.* 2006. 15 (1).
3. Kano M, Hashimoto K. Synapse elimination in the central nervous system. *Curr Opin Neurobiol.* 2009. 19(2): 154-61.
4. Cherubini E, Gaiarsa JL, Ben-Ari Y. GABA: an excitatory transmitter in early postnatal life. *Trends Neurosci.* 1991. 14(12): 515-9.
5. Roussó T, Cordero A, Rodríguez Y, Suárez I and Alonso E. Aspectos Históricos del Tratamiento Farmacológico de la Epilepsia. *Rev. Ecuat. Neurol.* 2003. 12(1).
6. Ben-Ari Y. Developing networks play a similar melody. *Trends Neurosci.* 2001. 24(6): 353-60.
7. Katz LC y Shatz CJ. Synaptic activity and the construction of cortical circuits, *Science.* 1996. 274: 1133-1138.
8. Borodinsky, LN, Root CM, Cronin JA, Sann SB, Gu X y Spitzer NC. Activity-dependent homeostatic specification of transmitter expression in embryonic neurons. *Nature.* 2004. 429: 523-530.
9. West AE, Greenberg ME. Neuronal activity-regulated gene transcription in synapse development and cognitive function. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011. 1: 3(6).
10. Hubel DH y Wiesel TN. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J Physiol,* 1962. 160:106-154.
11. LeVay S, Stryker MP, Shatz CJ. Ocular dominance columns and their development in layer IV of the cat's visual cortex: a quantitative study. *J Comp Neurol.* 1978. 179(1): 223-44.
12. Feller MB. Spontaneous correlated activity in developing neural circuits. *Neuron.* 1999. 22(4): 653-6.
13. Crowley JC, Katz LC. Development of cortical circuits: lessons from ocular dominance columns. *Nat Rev Neurosci.* 2002. 3(1): 34-42.
14. Huberman, AD, Feller, MB y Chapman, B. Mechanisms underlying development of visual maps and receptive fields. *Annu. Rev. Neurosci.* 2008. 31: 479-509.
15. O'Donovan MJ. The origin of spontaneous activity in developing networks of the vertebrate nervous system. *Curr Opin Neurobiol.* 1999. 9(1): 94-104.
16. Spitzer NC. Activity-dependent neuronal differentiation prior to synapse formation: the functions of calcium transients. *J. Physiol. (Paris).* 2002. 96: 73-80.
17. Hanson MG, Landmesser LT. Normal patterns of spontaneous activity are required for correct motor axon guidance and the expression of specific guidance molecules. *Neuron* 2004. 43(5): 687-701.
18. Roufa D, Martonosi AN. Effect of curare on the development of chicken embryo skeletal muscle in ovo. *Biochem Pharmacol.* 1981. 30(12): 1501-5.
19. Gonzalez-Islas C y Wenner P. Spontaneous network activity in the embryonic spinal cord regulates AMPAergic and GABAergic synaptic strength. *Neuron.* 2006.49(4): 563-75.
20. Gonzalez-Islas C, Chub N y Wenner P. NKCC1 and AE3 appear to accumulate chloride in embryonic motoneurons. *J Neurophysiol.* 2009. 101(2): 507-18.
21. Garcia-Bereguain MA, Gonzalez-Islas C, Lindsly C, Butler E, Hill AW, Wenner P. In vivo synaptic scaling is mediated by GluA2-lacking AMPA receptors in the embryonic spinal cord. *J Neurosci.* 2013;33(16):6791-9.
22. Gonzalez-Islas C, Garcia-Bereguain MA y Wenner P. Tonic and transient endocannabinoid regulation of AMPAergic miniature postsynaptic currents and homeostatic plasticity in embryonic motor networks. *J Neurosci.* 2012. 32(39): 13597-607.
23. Gonzalez-Islas C, Garcia-Bereguain MA, O'Flaherty B, Wenner P. Tonic nicotinic transmission enhances spinal GABAergic presynaptic release and the frequency of spontaneous network activity. *Dev Neurobiol.* 2016 Mar;76(3):298-312.
24. Garcia-Bereguain MA, Gonzalez-Islas C, Lindsly C, Wenner P. Spontaneous Release Regulates Synaptic Scaling in the Embryonic Spinal Network In Vivo. *J Neurosci.* 2016 Jul 6;36(27):7268-82.
25. Chub N, y O'Donovan MJ. Post-episode depression of GABAergic transmission in spinal neurons of the chick embryo. *J Neurophysiol.* 2001. 85(5): 2166-76.
26. Wenner P y O'Donovan MJ. Mechanisms that initiate spontaneous network activity in the developing chick spinal cord. *J Neurophysiol.* 2001. 86(3): 1481-1498.
27. Chub N, Mentis GZ, O'Donovan MJ. Chloride-sensitive MEQ fluorescence in chick embryo motoneurons following manipulations of chloride and during spontaneous network activity. *J Neurophysiol.* 2006. 95(1): 323-30.
28. Hebb D. *The Organization of Behaviour.* John Wiley & Sons. 1949.
29. Malenka RC, Nicoll RA. Learning and memory. Never fear, LTP is here. *Nature.* 1997.390(6660): 552-3.
30. Yao H, Dan Y. Synaptic learning rules, cortical circuits, and visual function. *Neuroscientist.* 2005. 11(3): 206-16.
31. Turrigiano G, Abbott LF, Marder E. Activity-dependent changes in the intrinsic properties of cultured neurons. *Science.* 1994. 264(5161): 974-7.
32. Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC, Nelson SB. Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature.* 1998. 391(6670): 892-6.
33. Rich MM, Wenner P. Sensing and expressing homeostatic synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* 2007. 30(3): 119-25.
34. Gonzalez-Islas C, Chub N, Garcia-Bereguain MA y Wenner P. GABAergic synaptic scaling in embryonic motoneurons is mediated by a shift in the chloride reversal potential. *J Neurosci.* 2010. 30(39): 13016-20.