

**Prostaglandina E₂ induce depresión de la transmisión sináptica GABAérgica
en las neuronas piramidales del área de CA1 del hipocampo dorsal**

Tesis presentada a

LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

En Cumplimiento Parcial de los requisitos para optar al grado de
Doctor en Ciencias con Mención en Neurociencia

Facultad de Ciencias

Por

Juan Antonio Ahumada Riveros

Septiembre, 2021

Dirigida por:

Dr. Marco Fuenzalida Nuñez

Co-Dirigida por:

Dr. Christian Bonansco

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por:

Juan Antonio Ahumada Riveros

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Neurociencia, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día del Mes de Marzo del 2021

Director/a de Tesis:

Dr. Marco Fuenzalida Núñez

Co-Director/a de Tesis:

Dr. Christian Bonansco Herrera

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Andrés E. Chávez

Dr. Pablo Fuentealba D.

Agradecimientos

Mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas, que a lo largo de mi vida han participado en mi formación, tanto personal como profesional. No los nombraré uno por uno, la lista sería demasiado larga, pero estoy seguro de que ellos saben quiénes son y que no estaría aquí si no fueran parte de mi vida. A todos y todas, muchas gracias.

Índice

Agradecimientos.....	iii
Lista de figuras	vi
Abreviaturas.....	vii
Unidades de medida.....	ix
Resumen	x
Summary	xi
1-Introducción.....	1
1.1- Hipocampo: circuito y función	1
1.2 Prostaglandina E ₂ en el sistema nervioso central.....	5
2-Planteamiento del problema	9
3-Hipótesis.....	10
4-Materiales y métodos	11
4.1-Animales de experimentación.....	11
4.2-Rebanadas de HPCd	11
4.3-Registros electrofisiológicos.....	12
4.4-Soluciones de registro y farmacología.....	13
4.5-Protocolo de pulsos pareados	14
4.6-Coeficiente de variación.....	14
4.7-Constante de tiempo de la fase de caída de las eIPSCs	15
4.8-Registros de corrientes espontáneas en miniatura	15
4.9-Análisis	16
5-Resultados	19
5.1-La PGE ₂ deprime la transmisión GABAérgica en el HPCd	19
5.2- La PGE ₂ disminuye la frecuencia de las mIPSCs	22
5.3- Participación de receptores post-sinápticos acoplados a proteína G en la depresión de la transmisión inhibitoria generada por la PGE ₂	24
5.4- La PGE ₂ deprime la transmisión GABAérgica sobre las neuronas piramidales del área de CA1 del HPCd a través del receptor EP ₃	27
5.5- La depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por la PGE ₂ depende de proteínas quinasas	31
5.6- La depresión de la sinapsis GABAérgica generada por la PGE ₂ es específica en las entradas sinápticas inhibitorias del <i>stratum pyramidale</i>	33
5.7- La PGE ₂ deprime pre-sinápticamente un subgrupo específico de sinapsis GABAérgicas	35
5.7.1- La PGE ₂ deprime post-sinápticamente un subgrupo específico de sinapsis GABAérgicas	35

6-Discusión	38
6.1- La PGE ₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria en el HPCd	38
7-Conclusiones.....	48
Anexo.....	49
Referencias.....	57

Lista de figuras

Figura 1. Registros de corrientes inhibitorias registradas en las neuronas piramidales de CA1 en rebanadas de HPC dorsal.....	17
Figura 2. La PGE ₂ deprime la transmisión GABAérgica en las neuronas piramidales de CA1 del HPCd.....	21
Figura 3. La PGE ₂ disminuye la frecuencia de las mIPSC.....	23
Figura 4. Receptores post-sinápticos acoplados a proteína G se encuentran involucrados en la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por PGE ₂	25
Figura 5. Los receptores ionotrópicos para glutamato no participan en la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por PGE ₂	27
Figura 6. El receptor EP ₃ modula la transmisión GABAérgica en las neuronas piramidales de CA1 del HPCd.....	29
Figura 7. La inhibición no selectiva de la proteína quinasa A impide la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por PGE ₂	32
Figura 8. La PGE ₂ aumenta la razón por pulsos pareados, pero no deprime la amplitud de las eIPSCs evocadas en el <i>stratum radiatum</i>	34
Figura 9. La PGE ₂ deprime de manera diferencial distintas entradas GABAérgicas sobre las neuronas piramidales de CA1.....	36
Figura 10. Esquema del mecanismo hipotético que activa la PGE ₂ para deprimir la transmisión GABAérgica en el hipocampo dorsal	45

Abreviaturas

AC= adenilato ciclasa

A₁R= receptor de adenosina tipo 1

AMPc = Adenosín monofosfato cíclico

ANOVA= análisis de varianza

CA= *cornu ammonis*

CA1= *cornu ammonis* 1

CA2= *cornu ammonis* 2

CA3= *cornu ammonis* 3

CPF= corteza prefrontal

CB1R= receptor de cannabinoides tipo 1

CCK= colecistoquinina

CV= coeficiente de variación

DPP =depresión por pulsos pareados

EPR= receptores de prostaglandinas

EP₁R= receptor de prostaglandina 1

EP₂R= receptor de prostaglandina 2

EP₃R= receptor de prostaglandina 3

EP₄R= receptor de prostaglandina 4

EPSC= corriente postsináptica excitatoria

eEPSC= del inglés "*evoked excitatory post-synaptic current*" corriente postsináptica excitatoria evocada

eIPSC= del inglés "*evoked inhibitory post-synaptic current*", corriente postsináptica inhibitoria evocada

GABA= ácido γ-Aminobutírico

Glu = glutamato

IPSC=del inglés "*inhibitory post-synaptic current*", corriente postsináptica inhibitoria

mIPSC= del inglés “miniature inhibitory post-synaptic current”, corriente postsináptica inhibitoria
miniatura

mGluR= receptores metabotrópicos de glutamato

NMDAR= receptor N-metil D-aspartato

HPC= hipocampo

HPCd =hipocampo dorsal

HPCi= hipocampo intermedio

HPCv= hipocampo ventral

KS= kolmogorov smirnov

KW= *Kruskal-Wallis*

SEM= del inglés *standar error mean*, error estándar de la media

SOM= somatostatina

SW= *Shapiro Wilk*

T-test= prueba T pareada

Tau_{dec}= constante de tiempo de la fase de caída de las eIPSCs

MW= *Mann-whitney*

PPP= protocolo de pulsos pareados

PGs= prostaglandinas

PGE₂= prostaglandina E₂

PGE₂R= receptores para Prostaglandina E₂

RPP= razón de pulsos pareados

PKA= proteína quinasa A

PKC= proteína quinasa C

PV= parvalbumina

SN= sistema nervioso

SNC= sistema nervioso central

μOR= receptor mu-opioide

Unidades de medida

°C: grados Celsius

cm: centímetro

g: gramo

GΩ: gigaohm

Hz: Hertz

m: metro

min: minuto

MΩ: megaohm

mL: mililitro

mM: milimolar

mOsm: miliosmol

mV: milivolt

ms: milisegundo

pA: picoamperio

μM: micromolar

Resumen

El hipocampo es una importante estructura del sistema nervioso central que anatómicamente y funcionalmente se puede dividir en un área dorsal, principalmente relacionada con los procesos cognitivos como en el aprendizaje y la memoria espacial y en un área ventral que tiene una mayor participación en los procesos emocionales. El papel que juegan las interneuronas GABAérgicas es esencial para que los circuitos neuronales funcionen correctamente en las diferentes estructuras del cerebro incluido el hipocampo. La eficacia sináptica de estas interneuronas inhibitorias es finamente regulada por diversos neuromoduladores para una adecuada integración de la información. En las últimas décadas han cobrado un gran interés las moléculas neuromoduladoras de origen lipídico como las prostaglandinas (PGs). En el sistema nervioso, las PGs generan modificaciones en la eficacia sináptica excitatoria e inhibitoria a través de la activación de distintos receptores metabotrópicos. Una de las PGs más abundante y estudiada es la prostaglandina E₂ (PGE₂), la cual activa cuatro receptores metabotrópicos (EP₁₋₄) de siete dominios transmembrana que se encuentran acoplados a proteína G. En el hipocampo, los receptores para PGE₂ se expresan tanto a nivel pre como post-sináptico y se ha descrito que la activación del receptor EP₂ induce un aumento de la probabilidad de liberación de glutamato sobre las neuronas piramidales del área de CA1. En experimentos previos de nuestro laboratorio encontramos que la PGE₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria. Sin embargo, se desconoce el mecanismo celular de la PGE₂ para modular la eficacia sináptica GABAérgica. Por lo tanto, decidimos estudiar el efecto de la PGE₂ sobre la transmisión inhibitoria en el hipocampo dorsal, el cual se encuentra principalmente relacionado a los procesos cognitivos. Para cumplir con este objetivo, utilizamos técnicas de electrofisiología y farmacología para estudiar el efecto de la PGE₂ sobre la eficacia sináptica GABAérgica en las neuronas piramidales de la región de CA1 del hipocampo dorsal de ratas. Los experimentos realizados en este trabajo indican que la PGE₂ genera una depresión de la sinapsis GABAérgica por medio de la activación de mecanismos tanto pre como post-sinápticos. Lo que sugiere que la aplicación de la PGE₂ disminuye tanto la probabilidad de liberación como el número o conductancia de los receptores ionotrópicos GABA_A. Nuestros resultados, adicionalmente muestran, que el receptor EP₃ participa de la modulación de la eficacia sináptica inhibitoria en el hipocampo dorsal, deprimiendo la sinapsis GABAérgica en el circuito hipocampal. Estos datos son importantes para comprender los mecanismos celulares involucrados en el procesamiento de la información en el hipocampo dorsal y los procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria que dependen de esta estructura.

Summary

The hippocampus is an essential structure of the central nervous system that, anatomically and functionally, can be divided into a dorsal area, mainly related to cognitive processes such as learning and spatial memory, and in a ventral area with greater participation in emotional processes. The role played by GABAergic interneurons is crucial for neural circuits to function correctly in the different structures of the brain, including the hippocampus. Various neuromodulators finely regulate the synaptic efficacy of these inhibitory interneurons for adequate information integration. In recent decades, neuromodulatory molecules of lipid origin, such as prostaglandins (PGs), have gained significant interest. In the nervous system, PGs, through the activation of different metabotropic receptors, generate modifications in excitatory and inhibitory synaptic efficacy. One of the most abundant and studied PGs is prostaglandin E₂ (PGE₂), which activates four metabotropic receptors (EP₁₋₄) of seven transmembrane domains coupled to a G protein. These receptors are expressed pre-synaptic and post-synaptic in different brain structures, such as in the hippocampus. In the hippocampus, PGE₂ receptors have expressed both pre and post-synaptic. Furthermore, the PGE₂, through activation of the EP₂ receptor, increases the probability of glutamate release on pyramidal neurons in the CA1 area. In previous experiments in our laboratory, we found that PGE₂ depresses inhibitory synaptic transmission. However, the cellular mechanism of PGE₂ to modulate GABAergic synaptic efficacy is unknown. To this goal, we used electrophysiology and pharmacology techniques to study the effect of PGE₂ on GABAergic synaptic efficacy in pyramidal neurons in the CA1 region of the rat dorsal hippocampus. The experiments in this work indicate that PGE₂ generates a depression of the GABAergic synapse through the activation of both pre-and post-synaptic mechanisms. Additionally, this data suggests that the application of PGE₂ decreases both the release probability and the number or conductance of ionotropic GABA_A receptors. Our results also show that the EP₃ receptor modulates the inhibitory synaptic efficiency in the dorsal hippocampus, depressing the GABAergic synapse in the hippocampal circuit. These data are crucial for understanding the cellular mechanisms involved in information processing in the dorsal hippocampus and the cognitive processes such as learning and memory that depend on this structure.

1-Introducción

1.1- Hipocampo: circuito y función

El hipocampo (HPC), es una estructura cerebral esencial para los procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria (Andersen et al., 2007; Braak et al., 1996; Eichenbaum et al., 1996, 2007). El HPC está formado por el *cornu ammonis* (CA), el cual se subdivide en 3 principales áreas (CA1, CA2 y CA3) y en conjunto con el giro dentado, la corteza entorrinal y el *subiculum* se denominan la formación hipocampal, que se encuentra en el lóbulo temporal medial (Andersen et al., 2007). Por otra parte, el HPC también puede ser subdividido en relación con su ubicación en el eje dorsal-ventral (posterior-anterior en primates) en las zonas dorsal, intermedio y ventral (HPCd, HPCi y HPCv, respectivamente). Tanto en el HPC dorsal como ventral, las neuronas piramidales son el principal grupo de células de tipo excitatorio en el área de CA1 (Andersen et al., 2007; Eichenbaum et al., 2007; Knowles, 1992). Sin embargo, se ha descrito que las células hipocampales a lo largo de este eje se diferencian en su morfología, expresión génica y propiedades electrofisiológicas (Dong et al., 2009; Fanselow and Dong, 2010; Malik et al., 2016; Milior et al., 2016). Adicionalmente, las conexiones del HPC dorsal y ventral con otras estructuras cerebrales también son diferentes y se relacionan con sus respectivas funciones (Fanselow and Dong, 2010). Las neuronas piramidales del área de CA1 dorsal envían proyecciones principalmente hacia el subiculum dorsal (Amaral et al., 1991; van Groen and Wyss, 1990; Witter and Groenewegen, 1990; Witter and Amaral, 2004). Las neuronas de ambas áreas proyectan sus axones hacia la corteza retrosplenial y la corteza del cíngulo anterior (Cenquizca and Swanson, 2007; Risold and Swanson 1996; van Groen and Wyss, 2003) ambas áreas cumplen un papel importante en el procesamiento cognitivo de la información visual-espacial y en la exploración del medio ambiente (Frankland et al., 2004; Jones and Wilson, 2005; Lavenex et al., 2006). Las neuronas del subiculum dorsal también envían proyecciones hacia los núcleos mamilares y al complejo talámico anterior, estructuras relacionadas a la navegación espacial (Ishizuka, 2001; Kishi et al., 2000; Taube, 2007). Por otro lado, las neuronas piramidales del

área de CA1 ventral, proyectan sus axones hacia el subiculum ventral y desde ambas estructuras se conectan con los núcleos amígdalares (Pitkänen et al., 2000) y con las cortezas infralímbica, prelímbica e insular, conexiones que se relacionan con la respuesta al estrés y el procesamiento emocional (Chiba, 2000; Hoover and Vertes, 2007; Jones and Wilson, 2005; Roberts et al., 2007; Thierry et al., 2000). Las vías de comunicación del HPC dorsal y ventral con la corteza prefrontal también son diferentes (Sigurdsson and Duvarci, 2016). Por ejemplo, la región de CA1 del HPCd recibe una entrada sináptica glutamatérgica desde la corteza prefrontal (CPF) (Rajasethupathy et al., 2015). Mientras que desde la región de CA1 del HPCv se proyectan axones desde las neuronas piramidales hacia la CPF (Liu and Carter, 2018). Por otro lado, tanto el HPCd como el HPCv reciben y envían proyecciones excitatorias de manera indirecta hacia la CPF a través del núcleo reuniens (NR) en el tálamo (Preston and Eichenbaum, 2013; Sigurdsson and Duvarci, 2016; Zeithamova and Preston, 2010). En resumen, las diferencias en las conexiones del HPC dorsal y ventral se correlacionan con sus funciones, donde el HPCd juega principalmente un papel en los procesos cognitivos y el HPCv está involucrado en la respuesta al estrés y en los procesos emocionales (Fanselow and Dong, 2010). Además, las propiedades de procesamiento de información de los circuitos locales del HPC dorsal y ventral, como su capacidad de modificar la eficacia sináptica excitatoria tanto a corto como a largo plazo, son diferentes (Trompoukis and Papatheodoropoulos, 2000; Maruki et al., 2001; Kouvaros and Papatheodoropoulos, 2016a, 2016b; Tidball et al., 2017). Por ejemplo, el HPCv tiene una mayor capacidad, en comparación con el HPCd, para generar formas de plasticidad dependientes de receptores metabotrópicos para glutamato (mGluR) (Tidball et al., 2017). Mientras que el HPCd tiene una mayor capacidad para generar formas de plasticidad que dependen de receptores para adenosina (AR) (Trompoukis and Papatheodoropoulos, 2000; Kouvaros and Papatheodoropoulos, 2016b) y del receptor N-metil D-aspartato (NMDA) (Maruki et al., 2001; Babiec et al., 2017; Kouvaros and Papatheodoropoulos, 2016a).

En todas las regiones del HPC nos encontramos con una gran diversidad de interneuronas inhibitorias, clasificadas según sus características morfológicas, electrofisiológicas y moleculares (Bezaire and Soltesz, 2013; Chevaleyre and Piskorowski, 2014; Jinno and Kosaka, 2006; Klausberger and Somogyi, 2008; Pelkey et al., 2017). Estas interneuronas utilizan el principal

neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC), ácido γ -Aminobutírico (GABA) (Bezaire and Soltesz, 2013; Bowery and Smart, 2009; Klausberger and Somogyi, 2008; Pelkey et al., 2017). GABA controla la excitabilidad celular mediante el aumento de la conductancia al ion Cl^- por medio de la activación de receptores ionotrópicos GABA_A (GABA_AR) (Cherubini et al., 1991; Romo-Parra et al., 2008; Sigel and Steinmann, 2012) o la activación de canales de K^+ mediante receptores metabotrópicos GABA_B (GABA_BR) (Bettler et al., 2004; Pinard et al., 2010). Las interneuronas GABAérgicas conforman un pequeño porcentaje del total de células presentes en el HPC (~10-15%) (Bezaire and Soltesz, 2013; Pelkey et al., 2017). Sin embargo, sus axones se proyectan hacia cada una de las partes de las neuronas piramidales de la región de CA1 ubicadas en los *stratum oriens*, *pyramidale*, *radiatum* y *lacunosum moleculare* (Booker and Vida, 2018; Cobb et al., 1995; Klausberger and Somogyi, 2008; Pelkey et al., 2017). Las interneuronas axo-axónicas (células en candelabro) inervan el segmento inicial del axón, y expresan la proteína de unión a calcio parvalbúmina (PV positivas o PV⁺) (Forro et al., 2015; Klausberger et al., 2003). Las células en canasto hacen sinapsis en el soma y la dendrita proximal, expresan el péptido colecistoquinina (CCK positivas o CCK⁺) o la proteína PV (PV⁺) (Aika et al., 1994; Chevaleyre and Piskrowski, 2014; Fasano et al., 2017; Freund, 2003; Katona et al., 1999; Klausberger et al., 2002; Pelkey et al., 2017). De manera general, las interneuronas del área de CA1 del HPC se pueden dividir en dos grandes grupos, las interneuronas PV⁺ y las CCK⁺ (Chevaleyre and Piskrowski, 2014; Pelkey et al., 2017). Estas interneuronas son moduladas por diferentes receptores metabotrópicos que controlan su eficacia sináptica. Por ejemplo, las interneuronas CCK⁺ expresan el receptor de canabinoide tipo 1 (CB1R) y las interneuronas PV⁺ el receptor mu-opioide (μOR), pero ambos receptores no se co-expresan en las mismas células (Glickfeld et al., 2008; Nugent et al., 2007).

La actividad de las interneuronas GABAérgicas ubicadas en los circuitos locales del HPC dorsal y ventral se relacionan con procesos cognitivos y emocionales respectivamente (Yu et al., 2018; Deng et al., 2019). Las interneuronas PV⁺ en el HPCv pero no del HPCd juegan un papel más importante en la memoria de reconocimiento social (Deng et al., 2019) y la actividad de las interneuronas del HPCd contribuyen mayoritariamente a la memoria espacial (Yu et al., 2018). Adicionalmente, entre el HPCv e HPCd también se han reportado diferencias en la modulación de la

eficacia de la transmisión sináptica inhibitoria dependiente de corticoides, siendo mayor la depresión de la sinapsis inhibitoria en el HPCv (Maggio and Segal, 2009). Interneuronas O-LM que se encuentran en el HPCd tienen una mayor expresión de canales de potasio HCN2 en comparación con las OLM del HPCv, lo que funcionalmente termina con una corriente I_h de mayor magnitud en las O-LM del HPCd (Hilscher et al., 2019). Las diferencias que existen en la transmisión sináptica a lo largo del eje dorsal-ventral del HPC pueden contribuir a su vez a la diferenciación funcional que existe entre el HPC dorsal y ventral. Haciendo necesario estudiar la modulación de la eficacia sináptica GABAérgica de ambas zonas hipocámpales por separado.

Se piensa que la capacidad de las sinapsis para experimentar cambios duraderos en su eficacia es la base de los procesos de aprendizaje y memoria (Abraham et al., 2019). Existen diferentes sustancias neuromoduladoras capaces de generar cambios en la eficacia con que se transmite la información entre las neuronas, como por ejemplo, los neurotransmisores (GABA, glutamato, acetilcolina, etc.), los cuales son almacenados en vesículas y que al ser liberados actúan a través de la activación de receptores tanto ionotrópicos como metabotrópicos para potenciar o deprimir la eficacia de la transmisión sináptica (Ahumada et al., 2013; Avery and Krichmar, 2017; Cea-del Rio et al., 2011; Chevaleyre et al., 2007; Chiu et al., 2010; Fernández de Sevilla et al., 2008; Fuenzalida et al., 2007; Fukudome et al., 2004; Perea and Araque, 2007; Udakis et al., 2020). Por otro lado, en los últimos 20 años han tomado particular interés las moléculas neuromoduladoras no convencionales, las cuales no son almacenadas en vesículas, sino que se derivan de fosfolípidos de membrana como lo son las prostaglandinas (PGs) (Furuyashiki and Narumiya, 2011; Yang and Chen, 2008). Estas moléculas son parte de una familia de lípidos bioactivos que juegan un papel importante en diferentes procesos fisiológicos como en la inflamación, en la respuesta al estrés, en la percepción del dolor, en la generación de síntomas febriles y alérgicos (Bertin et al., 2012; Lacroix et al., 2015; Borgland et al., 2002; Chen et al., 2019; Claar et al., 2015; Dey et al., 2006; Furuyashiki and Narumiya, 2011; Kim, 2008; Martínez-Gras et al., 2011). Además, las PGs también participan en la regulación de la eficacia sináptica en varias estructuras del sistema nervioso incluido el HPC (Chen and Bazan, 2005b; Khazaeipool et al., 2018; Koch et al., 2010; Lu et al., 2007; Sang et al., 2005; Xiao et al., 2018; Yang and Chen, 2008).

1.2 Prostaglandina E₂ en el sistema nervioso central

Una de las PGs más abundante y estudiada es la prostaglandina E₂ (PGE₂), la cual regula varios procesos biológicos, como la proliferación celular, apoptosis, angiogénesis, inflamación y el dolor (Gomez et al., 2013; Hohjoh et al., 2014). También se ha descrito que la PGE₂ es importante en condiciones fisiológicas y patofisiológicas como en el insomnio, el estrés, la anorexia y el comportamiento impulsivo (Levine and Morley, 1981; Huang et al., 2003; Matsuoka et al., 2005; Furuyashiki and Narumiya, 2011). El proceso neuroinflamatorio se encuentra asociado a un aumento en la producción y liberación de PGs, lo que causa déficits cognitivos como la pérdida de memoria (Hein and O'Banion, 2009; López and Ballaz, 2020). En el HPCd, la interleuquina 1 β causa un deterioro en el aprendizaje del miedo al contexto a través de la acción de las PGs, efecto que se replica utilizando directamente la PGE₂ (Hein et al., 2007). A nivel del SNC, la PGE₂ juega un papel como una molécula neuromoduladora, regulando la plasticidad sináptica y los procesos cognitivos (Akaneya and Tsumoto, 2006; Chen and Bazan, 2005a, 2005b; Chen et al., 2002; Khazaeipool et al., 2018; Koch et al., 2010; Lu et al., 2007; Mizutani et al., 2015; Sang et al., 2005; Yang and Chen, 2008; Yang et al., 2009). La vía de síntesis de la PGE₂ involucra a la fosfolipasa A₂ (PLA₂), esta enzima hidroliza fosfolípidos de membrana para liberar ácido araquidónico (AA) el cual es usado como sustrato por la ciclooxigenasa-2 (COX-2), una enzima clave en la síntesis de PGs (Furuyashiki and Narumiya, 2011; Yang and Chen, 2008). Si bien existen dos isoformas descritas, COX-1 y COX-2, además de un *splicing* alternativo de la COX-1 (COX-3), es la COX-2 la que tiene una mayor expresión en el cerebro (Yang and Chen, 2008). La COX-2 sintetiza una PG intermedia, la cual puede ser utilizada por diferentes enzimas que van a dar lugar a una variedad de prostanoides, incluida la PGE₂ (Chen and Bazan, 2005b; Chen et al., 2002; Simmons et al., 2004; Yang and Chen, 2008; Yermakova and O'Banion, 2000). Los receptores para PGE₂ (PGE₂R) se encuentran expresados en diferentes áreas cerebrales tanto corticales como subcorticales (Akaneya, 2008; Khazaeipool et al., 2018; Laaris and Weinreich, 2007; Sang et al., 2005; Sugimoto and Narumiya, 2007; Zhu et al., 2005). En general, la PGE₂ señala a través de cuatro tipos de receptores metabotrópicos con siete dominios transmembrana acoplados a proteína G denominados EP₁R, EP₂R, EP₃R y EP₄R (Furuyashiki and Narumiya, 2011; Yang and Chen, 2008; Zhu et al., 2005). El EP₂R y EP₄R se

encuentran acoplados a proteínas excitadoras tipo Gs, que activan la vía de señalización adenilato ciclasa-AMPC-proteína quinasa A (AC-AMPC-PKA). El EP₃R se encuentra acoplado a una proteína de tipo Gi, que inhibe la misma cascada intracelular AC-AMPC-PKA (Yang and Chen, 2008). Por último, el EP₁R está acoplado a una proteína Gq y activa a la fosfolipasa C cuya activación desencadena el aumento del calcio intracelular (Yang and Chen, 2008; Zhu et al., 2005). Los receptores para PGE₂ inducen modificaciones en la eficacia de la transmisión sináptica de diferentes circuitos neuronales en el SNC. El receptor EP₄ aumenta la transmisión excitatoria sobre las neuronas liberadoras de gonadotropina en el hipotálamo (Fujioka et al., 2017). En cultivos celulares de cerebelo el receptor EP₁ incrementa la corriente generada por la activación de receptores GABA_A (Yang et al., 2015). En el HPC, los receptores para PGE₂ se expresan tanto en los terminales sinápticos como en las espinas dendríticas y los astrocitos (Zhu et al., 2005). Se ha descrito que la PGE₂ aumenta la excitabilidad de las neuronas hipocampales a través del control de la probabilidad de apertura de canales de potasio (Chen and Bazan, 2005a; Chen et al., 2002). Adicionalmente, la potenciación a largo plazo en las neuronas piramidales de CA1, generada por protocolos de estimulación de alta frecuencia, induce la síntesis de PGE₂ a nivel post-sináptico y activa al EP₂R en los terminales glutamatérgicos que provienen de las neuronas piramidales de CA3 (Sang et al., 2005). Y, de manera interesante, en ratones *knockout* (KO) para el EP₂R, la plasticidad de largo plazo de la sinapsis excitatoria se encuentra disminuida en el HPC y el aprendizaje de tipo espacial está deteriorado (Yang et al., 2009). Por otro lado, en el núcleo paraventricular del hipotálamo la aplicación de PGE₂ y activación de EP₃R disminuye la probabilidad de liberación de la sinapsis GABAérgica, (Khazaeipool et al., 2018), en el núcleo del tracto solitario la PGE₂ a través del receptor EP₃ deprime la transmisión sináptica glutamatérgica (Laaris and Weinreich, 2007). En experimentos preliminares de nuestro laboratorio encontramos que el la PGE₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria sobre las neuronas piramidales de CA1 del HPC (figura recuadro). Sin embargo, a pesar de que la actividad de las interneuronas GABAérgicas es crucial para las funciones de procesamiento de la información que dependen del circuito hipocampal, se desconoce si la PGE₂ es capaz de modificar la eficacia sináptica inhibitoria en el HPC. Nosotros decidimos determinar si la PGE₂ regula la eficacia sináptica GABAérgica en el HPCd, el cual se encuentra principalmente relacionado a los

procesos cognitivos como la memoria espacial. Encontramos que la PGE₂ deprime las sinapsis GABAérgicas sobre las neuronas piramidales de la región de CA1 dorsal, sugiriendo que la PGE₂ juega un papel importante en la modulación de la eficacia sináptica del circuito local en el HPCd. Nuestros resultados sugieren que la PGE₂ juega un papel importante en el procesamiento de la información hipocampal y probablemente en los procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria.

Recuadro: La PGE₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria en el hipocampo.

La PGE₂ juega un papel importante en la regulación de la eficacia sináptica en distintas estructuras del SNC (Akaneya and Tsumoto, 2006; Chen and Bazan, 2005a, Khazaeipool et al., 2018; Lu et al., 2007; Mizutani et al., 2015; Yang and Chen, 2008; Yang et al., 2009). En el HPC, se ha descrito que el receptor EP₂ para PGE₂ potencia la transmisión sináptica excitatoria aumentando la probabilidad de liberación de glutamato (Sang et al., 2005). Sin embargo, se desconoce si la PGE₂ puede generar modificaciones en la eficacia de la transmisión GABAérgica hipocampal. Nosotros decidimos determinar el efecto de la PGE₂ sobre la sinapsis inhibitoria sobre las neuronas piramidales de la región de CA1 del HPC. Para evaluar este objetivo, obtuvimos un registro estable de las corrientes post-sinápticas inhibitorias evocadas (eIPSCs) por un electrodo de estimulación ubicado en el *stratum pyramidale* en las neuronas piramidales de la región de CA1. Luego aplicamos la PGE₂ en la cámara de registro a una concentración final de 10µM, lo que genera una depresión de la amplitud las corrientes inhibitorias (alcanzando un 85.1±3.2% del control, n=7, figura recuadro). Este resultado sugiere que la PGE₂ genera una depresión de la transmisión GABAérgica sobre las neuronas piramidales de la región de CA1. Sin embargo, se desconoce el mecanismo que utiliza la PGE₂ para deprimir la sinapsis inhibitoria.

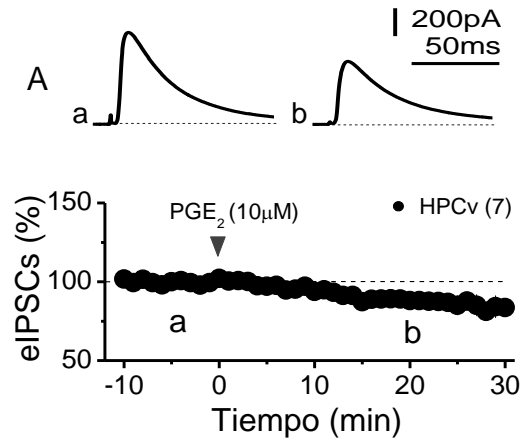


Figura recuadro. La PGE₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria en el HPC. En **A) Arriba**, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 antes (a, trazo negro) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (b, trazo gris). **Abajo**, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂ (SW-Test p=0.73 en el basal y p=0.48, 20 minutos de la aplicación de PGE₂, T-test pareado p=0.016). El gráfico muestra el promedio ± SEM.

Referencia

- Ahumada, J, Bonansco, C, Fuenzalida M.: Prostaglandin E₂ decrease inhibitory post-synaptic current in CA1 pyramidal neurons of hippocampus: (2015): XXX reunión anual de la Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas en conjunto con la XI reunión anual de la Sociedad Chilena de Neurociencia y la XXXVII congreso anual de la Sociedad de Farmacología de Chile, Coquimbo Chile.
- Akaneya Y, Tsumoto T. Bidirectional trafficking of prostaglandin E2 receptors involved in long-term potentiation in visual cortex. *J Neurosci.* (2006) Oct 4;26(40):10209-21. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3028-06.2006. PMID: 17021176; PMCID: PMC6674642
- Chen, C., and Bazan, N.G. (2005a). Endogenous PGE2 Regulates Membrane Excitability and Synaptic Transmission in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *J. Neurophysiol.* 93, 929–941.
- Khazaeipool, Z., Wiederman, M., and Inoue, W. (2018). Prostaglandin E2 depresses GABA release onto parvocellular neuroendocrine neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus via presynaptic receptors. *J. Neuroendocrinol.* 30, e12638.
- Lu, J., Xing, J., and Li, J. (2007). Prostaglandin E2 (PGE2) inhibits glutamatergic synaptic transmission in dorsolateral periaqueductal gray (dl-PAG). *Brain Res.* 1162, 38–47.
- Mizutani, Y., Ohi, Y., Kimura, S., Miyazawa, K., Goto, S., and Haji, A. (2015). Effects of prostaglandin E2 on synaptic transmission in the rat spinal trigeminal subnucleus caudalis. *Brain Res.* 1625, 29–38.
- Sang, N., Zhang, J., Marcheselli, V., Bazan, N.G., and Chen, C. (2005). Postsynaptically synthesized prostaglandin E2 (PGE2) modulates hippocampal synaptic transmission via a presynaptic PGE2 EP2 receptor. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 9858–9870.
- Yang, H., and Chen, C. (2008). Cyclooxygenase-2 in synaptic signaling. *Curr. Pharm. Des.* 14, 1443–1451.
- Yang, H., Zhang, J., Breyer, R.M., and Chen, C. (2009). Altered hippocampal long-term synaptic plasticity in mice deficient in the PGE2 EP2 receptor. *J. Neurochem.* 108, 295–304.

2-Planteamiento del problema

El hipocampo dorsal juega un papel fundamental en los procesos cognitivos como en la memoria de trabajo, memoria espacial o en la memoria de miedo al contexto. La eficacia sináptica de las interneuronas inhibitorias debe ser finamente regulada para mantener un adecuado balance excitación/inhibición y con ello, un correcto funcionamiento del circuito neuronal del hipocampo dorsal. Por otro lado, entre diferentes moléculas neuroactivas, se ha descrito que la PGE₂ juega un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria asociados al hipocampo dorsal. Estudios preliminares realizados en nuestro laboratorio sugieren que la PGE₂ deprime la transmisión inhibitoria en el HPC. Sin embargo, hasta el momento no se ha estudiado el efecto de la PGE₂ en las sinapsis GABAérgicas del área CA1 del hipocampo dorsal, lo que podría tener implicancias en la memoria y el aprendizaje. Por lo tanto, en este trabajo nos enfocamos en estudiar los mecanismos celulares activados por PGE₂ exógena que deprimen la eficacia sináptica GABAérgica sobre las neuronas piramidales del área de CA1 del hipocampo dorsal.

3-Hipótesis

-La activación de los receptores para PGE₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria en las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo dorsal.

-Objetivo general

-Determinar si la activación de los receptores para PGE₂ deprime la transmisión inhibitoria en neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo dorsal

-Objetivos específicos

-Determinar si el mecanismo de inducción de la plasticidad sináptica dependiente de PGE₂ exógena es de origen pre o post-sináptico en neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo dorsal.

-Identificar el tipo de receptor para PGE₂ y la cascada de señalización que participan en la depresión de la transmisión sináptica inhibitoria generada por la PGE₂.

4-Materiales y métodos

4.1-Animales de experimentación

Para la preparación de las rebanadas de HPCd se utilizaron ratas macho *Sprague-Dawley* adultas (>p60). Los animales utilizados fueron sacrificados según normas aprobadas por el comité de bioética de la Universidad de Valparaíso. Previamente los animales fueron anestesiados con isoflurano al 100%, una vez que el animal se encontraba inconsciente se procedió a su decapitación, para rápidamente extraer el encéfalo por craneotomía.

4.2-Rebanadas de HPCd

Los registros electrofisiológicos se realizaron *in vitro* en rodajas de HPCd, las cuales fueron obtenidas mediante la misma metodología utilizada en trabajos anteriores realizados en nuestro laboratorio (Ahumada et al., 2013; Álvarez-Ferradas et al., 2015; Morales et al., 2014; Pérez et al., 2019). Los animales fueron decapitados y su cerebro expuesto por craneotomía, el encéfalo fue extraído en menos de 1 minuto y sumergido en líquido cefalorraquídeo artificial (LCA), cuya temperatura se encontraba entre 1 y 4°C para disminuir el metabolismo celular y aumentar la viabilidad de las células. La composición iónica del LCA en mM que se utilizó fue el siguiente: 124.00 NaCl, 2.69 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 2.00 Mg₂SO₄, 26.00 NaHCO₃, 2.00 CaCl₂ y 10.00 Glucosa. Una vez extraído el encéfalo, se le realizaron dos cortes coronales, uno anterior y otro posterior, los cuales fueron paralelos entre sí. Luego fue fijado en el plano coronal-frontal a una cámara de corte junto con un trozo de agar-agar en forma de tope en su base. Se utilizó pegamento de cianocrilato y se sumergió en LCA, el cual se mantuvo burbujeado con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂) en todo momento. En estas condiciones, se procedió a obtener cortes coronales de HPCd con un espesor de ~350µm mediante un vibratomo motorizado (Campden instruments, model MA752). Utilizamos el atlas "*The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*" de Paxinos-Watson sexta edición para obtener las coordenadas estereotáxicas verticales que corresponden al HPCd, desde Interaural: 4.32mm y

Bregma: -4.68mm hasta Interaural: 6.60mm y Bregma: -2.40mm. Posterior al corte, las rodajas obtenidas fueron traspasadas a la cámara de incubación, donde se mantuvieron en LCA a temperatura ambiente (~25°C) con un pH estable (7.3-7.4) y burbujeado permanentemente con carbógeno.

4.3-Registros electrofisiológicos

Una vez pasado el tiempo de incubación (~45 minutos), las rebanadas de HPCd fueron transferidas a una cámara de registro, adaptada con un microscopio (NIKON, modelo Eclipse FN1). La composición del LCA utilizado para registrar fue la misma que se usó para los procesos de obtención y de incubación de las rebanadas de HPCd. Las rebanadas fueron perfundidas, a través de un sistema de circulación con LCA a temperatura ambiente y un flujo ~1ml/minuto constante. El sistema de registro (*setup*) se encontraba sobre una mesa anti-vibratoria para permitir la obtención de registros estables impidiendo la transmisión de vibraciones ambientales a la preparación. Los registros electrofisiológicos fueron obtenidos mediante la técnica de *patch clamp* en su configuración de célula entera. Los registros se realizaron al interior de una jaula de Faraday, para disminuir el ruido eléctrico proveniente desde aparatos externos. Se utilizó la modalidad de fijación de voltaje (*voltaje clamp*; VC) para registrar las corrientes post-sinápticas inhibitorias evocadas (eIPSCs) como se muestra en la figura 1. El “*holding*” (potencial de mantención; *V_h*) fue ajustado al potencial de reversión de las corrientes glutamatérgicas para el registro aislado de las eIPSCs (0mV) (figura 1). Se utilizó un electrodo de alambre de plata clorurada (Ag/AgCl) incluido en una micropipeta de vidrio/borosilicato (diámetro externo-interno: 1.5-0.84mm) para registrar las corrientes inhibitorias en las neuronas piramidales de CA1. Las pipetas fueron fabricadas con un estirador de pipetas (Sutter Instrument Co., P-97) y rellenadas con la solución intracelular (ver soluciones de registro). Fueron utilizadas las pipetas con resistencias que estuvieron en un rango de 4-7 MΩ. El electrodo en la pipeta de registro se encontraba conectado a un amplificador PC-ONE (DAGAN Corporation). Las neuronas fueron aceptadas sólo cuando la resistencia del sello fue mayor o igual a 1GΩ y la resistencia de acceso (*R_a*) no cambió más de un 15% durante el experimento. Los registros fueron filtrados a 3 KHz y muestreados a 20 KHz, a través de un conversor análogo-digital (Digidata 1440A,

Molecular Devices, Chicago, IL. USA). Los datos fueron adquiridos y analizados con el software Clampex 10.4 y pClampfit 10.4 respectivamente (Axon pCLAMP 10.4 Software Suite, Molecular Devices). Como electrodo de referencia se empleó un electrodo epoxy relleno de KCl y con una resistencia de 2.7 K Ω (World Precision Instruments, Inc). El electrodo de estimulación fue fabricado con una pipeta septada rellena con solución extracelular y dos alambres de plata acoplados a una fuente de estimulación, posicionado en la capa piramidal a ~30-40 μ m de la pipeta de registro.

4.4-Soluciones de registro y farmacología

La composición en mM de la solución intracelular que se utilizó en la pipeta de registro fue de: 100 Cs-Gluconato, 10 HEPES, 10 EGTA, 4 Na₂-ATP, 10 TEA-Cl y 1 MgCl₄*7H₂O. Además, en algunos experimentos, para bloquear las proteínas G post-sinápticas se utilizó, 100 Cs-Gluconato, 10 HEPES, 10 EGTA, 4 Na₂-ATP, 10 TEA-Cl, 1 MgCl₄ *7H₂O y 2 GDP β S.

Para evaluar si la activación de los PGE₂R puede inducir cambios en la eficacia sináptica GABAérgica sobre las neuronas piramidales de CA1, se aplicó la PGE₂ (10 μ M) (Chen et al., 2002; Sang et al., 2005; Khazaeipool et al., 2018) directamente a la cámara de registro mediante una micropipeta a una concentración final de 10 μ M en diferentes condiciones según fuera necesario. El flujo tenía una velocidad de ~1mL/min y la cámara de registro contenía ~1mL de LCA, de esta manera el tiempo que la PGE₂ permanece a 10 μ M en el LCA que baña a la rebanada de HPCd es de ~1 min.

Durante las distintas condiciones experimentales y de acuerdo a los objetivos planteados, fueron añadidos al LCA diferentes fármacos según fueron requeridos: picrotoxina (PTX, 50 μ M) antagonista receptor GABA_A (figura 1), *D-(-)-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid* (APV, 50 μ M) un antagonista selectivo del receptor NMDA, *6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione* (CNQX, 20 μ M) antagonista del receptor AMPA (Pérez et al., 2019), L-798,101 (L-798, 100nM) antagonista selectivo del EP₃R (Khazaeipool et al., 2018), *H 89 dihydrochloride* (H89, 10 μ M) inhibidor no selectivo de la proteína quinasa A (PKA) (Ahumada et al., 2013), *[D-Ala², NMe-Phe⁴, Gly-o⁵]-enkephalin* (DAMGO, 3 μ M) (Santander et al., en preparación, experimentos de nuestro laboratorio) agonista del receptor μ Opiode (μ OR), *WIN 55,212-2* (WIN, 5 μ M) (Heifets et al., 2008) agonista del receptor de

canabinoides tipo 1 (CB1R), tetrodoxina (TTX, 0.5 μ M) (Zhou et al., 2000) bloqueador del canal de sodio dependiente de voltaje.

4.5-Protocolo de pulsos pareados

Para determinar si los cambios en la eficacia sináptica generados por la PGE₂ se expresan a nivel pre-sinápticos, se utilizó un protocolo de pulsos pareados (PPP). El PPP consistió en estimular mediante dos pulsos eléctricos consecutivos y separados por cien milisegundos (ms) entre sí. Debido a la alta probabilidad de liberación de la sinapsis GABAérgica, el PPP induce una plasticidad sináptica de corto plazo en la cual la segunda respuesta es de menor amplitud que la primera, denominada depresión por pulsos pareados (DPP), característica en sinapsis de alta probabilidad de liberación. Se cuantificaron las amplitudes máximas de la primera (R₁) y de la segunda (R₂) respuesta (figura 1), las cuales se utilizaron para calcular la razón de pulsos pareados (RPP) dividiendo R₂ sobre R₁ (R₂/R₁). Si el valor de esta razón cambia durante el experimento sugiere que posiblemente los cambios que genera la PGE₂ se producen a nivel pre-sináptico (Manabe et al., 1993).

4.6-Coeficiente de variación

Otro método complementario para analizar cambios en la eficacia sináptica a nivel pre-sináptico es estimar modificaciones en la varianza de la amplitud de las eIPSCs. Para esto, calculamos el coeficiente de variación libre de ruido (CV_{NF}), en el registro basal y después de la aplicación de la PGE₂. Cambios en el CV sugieren que las modificaciones de la transmisión sináptica se expresan a nivel de la pre-sinapsis. Para este análisis utilizamos la fórmula:

$$CV_{NF} = \frac{\sqrt{(\delta_{IPSC}^2 - \delta_{noise}^2)}}{m}$$

Donde δ_{IPSC}^2 es la varianza de las amplitudes de las eIPSCs, δ_{noise}^2 es la varianza del ruido eléctrico del registro y m es la amplitud media de las eIPSCs (Forsythe and Clements, 1990; Bekkers and Stevens, 1990; Malinow and Tsien, 1990).

4.7-Constante de tiempo de la fase de caída de las eIPSCs

Modificaciones en la cinética de las corrientes sinápticas que se relacionan con la tasa de desactivación y/o de recuperación de la desensibilización de los receptores ionotrópicos también provocan cambios en la RPP (Kirischuk et al., 2002; von Engelhardt et al., 2010; Guzman and, Jonas 2010; Dawe et al., 2013). Para determinar si la PGE₂ genera cambios en la desactivación y/o en la desensibilización de los GABA_AR calculamos la constante de tiempo de la fase de caída de las eIPSCs (τ_{dec}) mediante el ajuste de una exponencial estándar entre el peak de las eIPSCs y unos 80ms después de este.

4.8-Registros de corrientes espontáneas en miniatura

Para determinar si la PGE₂ puede inducir cambios a nivel pre o post-sinápticos sobre la transmisión inhibitoria en las neuronas piramidales de CA1 se realizaron registros de las IPSCs en miniatura (mIPSCs) (Groc et al., 2003; Hsia et al., 1998; Wall and Usowicz, 1997) en presencia del bloqueador de canales de sodio activados por voltaje (TTX, 0.5 μ M) y en ausencia de estimulación a un potencial de mantención de 0mV. De esta manera, podemos estudiar la transmisión sináptica en ausencia del disparo de potenciales de acción en las neuronas y determinar si la depresión de la transmisión inhibitoria generada por la PGE₂ depende de la excitabilidad del HPCd. Ha sido descrito que los cambios en la frecuencia sugieren que los cambios plásticos se expresan en la pre-sinapsis, ya sea como una modificación en la probabilidad de liberación del neurotransmisor y/o un aumento

en el número de sitios que liberan neurotransmisor. Por otra parte, si cambia la amplitud, se sugiere que el fenómeno es expresado en la post-sinapsis, por medio de cambios en el número y/o en la conductancia de los receptores post-sinápticos.

4.9-Análisis

El análisis de los registros fue realizado con el programa *Clampfit* perteneciente al conjunto de programas denominado “*pCLAMP 10.4*” (Molecular Device, Chicago, IL. USA). Para la representación de las gráficas y el análisis estadístico se utilizó el software computacional “*Origin*” (versión 8.5, *Origin Lab Corp*, MA, USA). Para análisis de los registros de las mIPSCs fue utilizado el software *Minianalysis; Synptosoft*. Finalmente, se procedió a realizar el análisis estadístico usando, en primer lugar, la prueba de normalidad *Shapiro Wilk* (SW). Si la distribución de los datos fue normal se utilizó la prueba T pareada (T-test) de dos colas para determinar diferencias antes y después de la aplicación de PGE₂ y la ANOVA de una o dos vías para comparaciones entre grupos. Si la distribución de los datos fue no paramétrica, se utilizó la prueba *Mann-whitney* (MW) para determinar diferencias antes y después de la aplicación de PGE₂ o *Kruskal-Wallis* (KW) para comparaciones entre grupos. Para el análisis de la probabilidad acumulada de frecuencias y amplitudes de las corrientes espontaneas se utilizó la prueba *kolmogorov smirnov* (KS). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas los $p < 0.05$. Los valores estadísticos se encuentran descritos en los pies de figura.

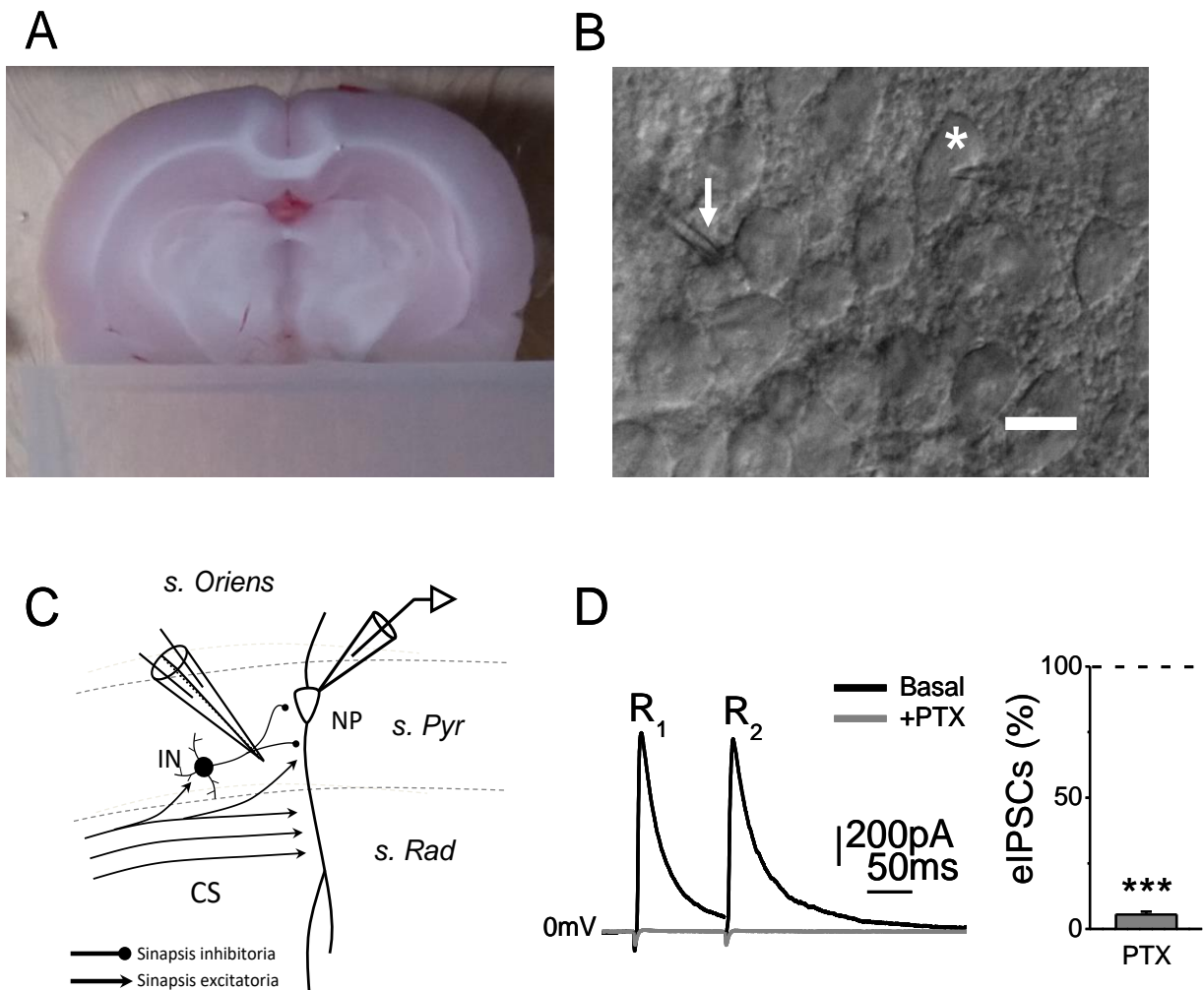


Figura 1. Registros de corrientes inhibitorias registradas en las neuronas piramidales de CA1 en rebanadas de HPC dorsal. En **A)**, se muestra un corte coronal del encéfalo de una rata control (p60), donde se puede observar el HPCd. En **B)**, se muestra una fotografía tomada a través de un objetivo de inmersión con un aumento de 40X, la región ampliada corresponde al área de CA1 del HPCd, el asterisco blanco indica donde se encuentra la neurona piramidal de CA1 y la pipeta de registro, la flecha blanca indica donde se encuentra el electrodo de estimulación. La barra blanca de calibración equivale a 20 μ m. En **C)**, se muestra un esquema simplificado, que muestra solo algunas vías inhibitorias y excitatorias en el área CA1 del HPCd. En el esquema se representa a una neurona piramidal de CA1 siendo registrada con la técnica de *patch-clamp* a través de una pipeta de vidrio con un electrodo de plata en su interior (reg). En negro se esquematiza una interneurona GABAérgica, que representa la sinapsis inhibitoria sobre la neurona piramidal de CA1, además, también se esquematizan los axones que provienen desde las neuronas piramidales de CA3 las

cuales son glutamatérgicas y representan la sinapsis excitatoria sobre la neurona piramidal de CA1. Las líneas punteadas delimitan al *stratum pyramidale* (*S. Pyr*), *stratum radiatum* (*S. Rad*) y el *stratum Oriens* (*S.O*). El electrodo de estimulación (Estim) se encuentra ubicado en el *S. Pyr*. En **D**), **a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en una neurona piramidal de CA1 aisladas por voltaje a un potencial de mantención de 0mV utilizando el PPP. El trazo negro indica la situación basal y el trazo gris indica la presencia de PTX (antagonista del receptor GABA_A). **A la derecha**, se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs después de la aplicación de PTX (Shapiro Wilk $p=0.35$ y T-test pareado $p=3.9E^{-9}$). Los asteriscos indican (*) $p<0.05$, (**) $p<0.01$ y (***) $p<0.001$ al igual que en el resto de las figuras. El gráfico de barra muestra el valor promedio \pm SEM.

5-Resultados

5.1-La PGE₂ deprime la transmisión GABAérgica en el HPCd

A pesar del importante papel que juegan las sinapsis inhibitorias en el correcto funcionamiento de los circuitos sinápticos (Tremblay et al., 2016). Existen aún pocos estudios que busquen dilucidar los mecanismos que gobiernan las modificaciones de la eficacia sináptica GABAérgica en el SNC. La PGE₂, por ejemplo, en el HPC es un importante neuromodulador de la transmisión glutamatérgica (Yang et al., 2009; Chen and Bazan, 2005a, Chen et al., 2002), sin embargo, se desconoce su efecto sobre la eficacia de la transmisión sináptica inhibitoria. En este trabajo decidimos registrar las eIPSCs en las neuronas piramidales del área de CA1 del HPCd, la zona hipocampal responsable de procesos cognitivos como la memoria espacial (Fanselow and Dong, 2010). Aislamos las eIPSCs manteniendo a las células en el potencial de reversión de la sinapsis glutamatérgica (0mV), las cuales fueron evocadas con un electrodo de estimulación posicionado en el *stratum pyramidale* (figura 1). Debido a que la PGE₂ puede disminuir las conductancias de potasio de las neuronas piramidales de la región de CA1 (Chen and Bazan, 2005a), utilizamos gluconato de cesio en la solución intracelular (véase materiales y métodos) para bloquear los canales de potasio y descartar el posible efecto de la PGE₂ sobre estas conductancias. Observamos que la aplicación de PGE₂ (10µM) en la cámara de registro por un corto período de tiempo (aproximadamente 1 minuto) deprime la amplitud de las eIPSCs de las neuronas piramidales de la región de CA1 hasta un 64.7±5.6% del control, (n=9, figura 2B y C). Por otro lado, para evaluar si los cambios en la eficacia de la transmisión sináptica generados por la PGE₂ pueden involucrar modificaciones pre-sinápticas, calculamos la razón por pulsos pareados (RPP) antes y 20 minutos después de aplicar la PGE₂. En estas condiciones observamos un aumento significativo en la RPP (desde 0.57±0.03 en el basal a un 0.86±0.05, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=9, figura 2D). Por otro lado, calculamos el coeficiente de variación (CV), el cual es una medida de la varianza de la amplitud de las eIPSCs cuyas modificaciones se han relacionados a cambios pre-sinápticos. Sin embargo, no encontramos diferencias significativas en el CV (desde 0.16±0.01 en el basal, hasta

0.17±0.02, a los 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=9, figura 2E). Adicionalmente, analizamos la constante de tiempo de la fase de decaimiento (τ_{dec}) de las eIPSCs, un parámetro que nos permite evaluar la cinética de la respuesta, que se relaciona con la desensibilización y la desactivación de los receptores post-sinápticos (Kirischuk et al., 2002; von Engelhardt et al., 2010; Guzman and, Jonas 2010; Dawe et al., 2013). La PGE₂ genera una disminución de τ_{dec} de las eIPSCs (desde 37.5±4.8ms en el basal hasta 28.8±4.6ms después de 20 minutos de la aplicación de la PGE₂, n=9, figura 2F). En conjunto, estos resultados sugieren que la PGE₂ genera una depresión de la transmisión GABAérgica que involucra mecanismos celulares tanto pre como post-sinápticos.

Para descartar que la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por la PGE₂ se deba a cambios en la interacción de la pipeta con la membrana celular medimos la Ra durante todo el experimento, la cual fue normalizada y graficada en función del tiempo como se muestra en la figura 2B. La aplicación de la PGE₂ no genera cambios significativos en la Ra, alcanzado un valor de 99.8±7.1% del control, 20 minutos después de la aplicación de PGE₂, (n=9, figura 2B), descartando que la depresión de las eIPSCs generada por la PGE₂ sea determinado por cambios en la interacción entre la pipeta y la membrana celular.

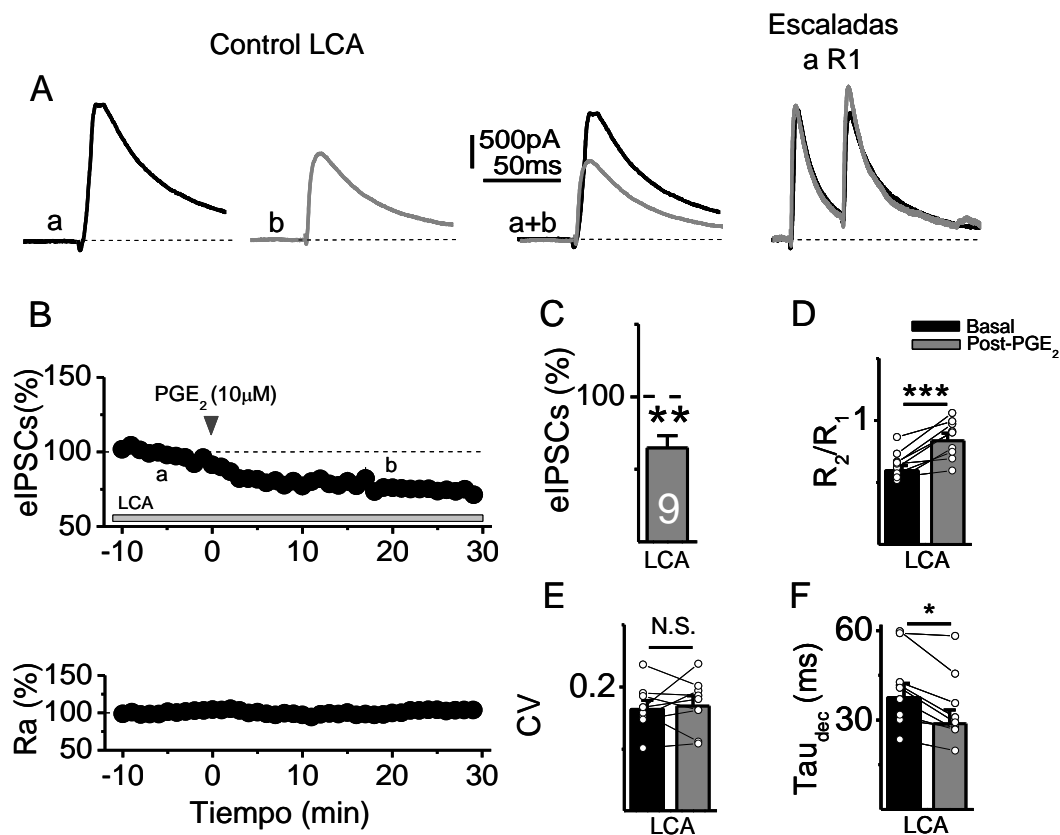


Figura 2. La PGE₂ deprime la transmisión GABAérgica en las neuronas piramidales de CA1 del HPCd. En **A**), arriba a la izquierda, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 en la solución control (LCA), antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran los trazos de las eIPSCs evocadas con el PPP antes (trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (trazo gris), se encuentran escalados a la primera respuesta (R₁). En **B**), arriba, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo en la solución control (LCA), la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂. **Abajo**, se muestra la resistencia de acceso (Ra) normalizada y graficada en función del tiempo en

LCA de registro (SW-test $p=0.83$ en el basal y $p=0.37$, 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , T-test pareado $p=0.34$). En **C**), se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de aplicar la PGE_2 en el LCA de registro (SW-test, $p=0.7$ en el basal y $p=0.56$, 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , T-test pareado $p=0.0029$). En **D**), se muestra la RPP en el basal (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE_2 (barra gris) en el LCA (SW-Test $p=0.49$ en el basal y $p=0.77$, 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , T-test pareado $p=0.00039$). En **E**), se muestra el CV en el basal (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE_2 (barra gris) en el LCA (SW-Test $p=0.72$ en el basal y $p=0.55$, 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , T-test pareado $p=0.71$). En **F**), se muestra el promedio de Tau de la fase de caída (Tau_{dec}) de las eIPSCs antes (barra negra) y después (barra gris) de 20 minutos de la aplicación de PGE_2 (SW-test $p=0.39$ en el basal y $p=0.10$, a los 20 minutos desde la aplicación de PGE_2 , T-test pareado $p=0.01$). Los círculos blancos en D, E y F indican los valores individuales de cada célula antes y después de aplicar la PGE_2 . Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

5.2- La PGE_2 disminuye la frecuencia de las mIPSCs

Para evaluar si la depresión de la sinapsis GABAérgica generada por la PGE_2 depende de mecanismos pre o post-sinápticos decidimos registrar y analizar las IPSCs en miniatura (mIPSCs). Las mIPSCs se registran en presencia de TTX para bloquear los canales de sodio activados por voltaje, separando el componente sináptico del disparo de potenciales de acción. Una variación en la frecuencia de las mIPSC refleja cambios en la probabilidad de liberación del neurotransmisor y variaciones en la amplitud se deben principalmente a cambios a nivel post-sinápticos, como modificaciones en el número de receptores o en su conductancia (Del Castillo and Katz 1954; Willye et al. 1994). Encontramos que la PGE_2 disminuye la frecuencia de las mIPSC ($0.91\pm 0.3\text{Hz}$ en el basal y $0.53\pm 0.2\text{Hz}$ a los 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , $n=4$, figura 3C) sin cambios significativos en su amplitud ($14.9\pm 2.2\text{pA}$ en el basal y $14.2\pm 1.6\text{pA}$, a los 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , $n=4$, figura 3C). Además, analizamos la probabilidad acumulada del intervalo inter-evento (en ms) y de la amplitud (en pA) antes y después de la aplicación de PGE_2 . El análisis muestra que la PGE_2 solo aumenta el intervalo inter-evento (figura 3B) corroborando que la PGE_2 disminuye la frecuencia, sin afectar la amplitud de las mIPSCs. Este resultado sugiere que la PGE_2 genera una depresión pre-sináptica de la transmisión inhibitoria GABAérgica independiente del disparo de potenciales de acción de las interneuronas que sinaptan con las neuronas piramidales de la región de CA1.

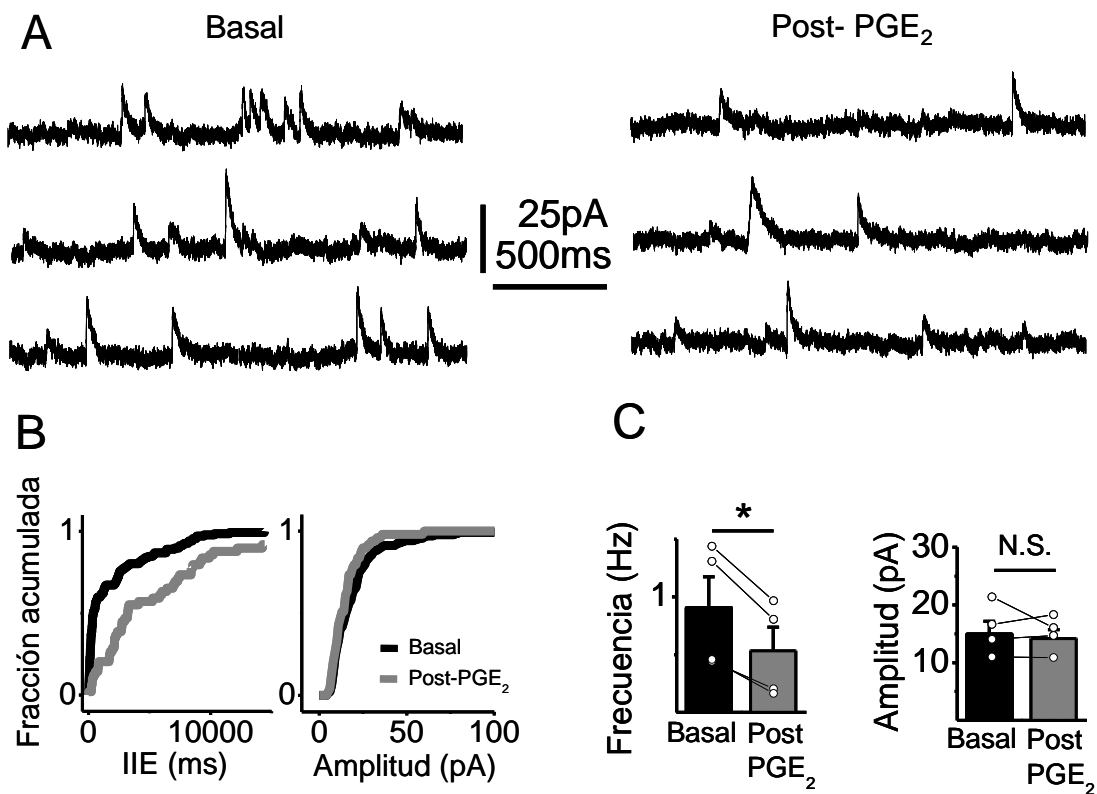


Figura 3. La PGE₂ disminuye la frecuencia de las mIPSC. En **A) a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las mIPSC registradas en las neuronas piramidales de CA1 en el basal. **A la derecha**, se muestran los trazos representativos de las mIPSC 20 minutos después de aplicar la PGE₂. En **B) a la izquierda**, se muestra la probabilidad acumulada del intervalo inter-evento (IIE) (KS-test $p=0.0002$). **A la derecha**, se muestra la probabilidad acumulada de amplitud (KS-test $p=0.43$). La línea negra indica la probabilidad acumulada en el basal y la línea gris indica la probabilidad acumulada después de aplicar la PGE₂. En **C)**, se muestran los promedios de la frecuencia (SW-test $p=0.09$ en el basal y $p=0.19$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.01$) y de la amplitud (a la derecha, SW-test $p=0.95$ en el basal y $p=0.88$, después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.65$). Los círculos blancos en C indican los valores individuales

de cada célula antes y después de aplicar la PGE₂. Las barras negras indican el basal y las barras grises indican que la PGE₂ fue lavada. El número de células registradas (n) fueron 4. Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

5.3- Participación de receptores post-sinápticos acoplados a proteína G en la depresión de la transmisión inhibitoria generada por la PGE₂

Los receptores para PGE₂ se encuentran acoplados a proteínas G (Zhu et al., 2005; Yang and Chen 2008), por lo tanto, utilizamos un GDP no hidrolizable (GDP β s, 2mM) en la pipeta de registro para bloquear las proteínas G que se encuentran en las neuronas piramidales de CA1 y determinar si participan en la depresión de la sinapsis GABAérgica generada por la PGE₂. En estas condiciones, la PGE₂ es incapaz de activar cascadas intracelulares a través de proteínas G en la neurona piramidal de CA1 que estamos registrando. La aplicación de la PGE₂ en la cámara de registro no deprime la amplitud de las eIPSCs, la cual alcanza un 100.5 \pm 12.9% del control, a los 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (n=5, figura 4B y C). Al calcular la RPP, no encontramos diferencias significativas por la aplicación de la PGE₂ con GDP β s en la pipeta de registro a pesar de que se observa una tendencia de aumento en el promedio (0.50 \pm 0.1 en el basal y un 0.73 \pm 0.06, a los 20 minutos después de aplicada la PGE₂, n=5, figura 4D). Por otro lado, no encontramos diferencias significativas en el CV (desde 0.15 \pm 0.01 en el basal hasta 0.14 \pm 0.01, a los 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=5, figura 4E) y tampoco en el tau_{dec} de las eIPSCs (desde 37.2 \pm 2.1ms en el basal hasta 38.8 \pm 2.2ms, 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=5, figura 4F). En conjunto, estos resultados sugieren que la PGE₂ requiere de la activación de proteínas G post-sinápticas para generar la depresión de la transmisión GABAérgica sobre las neuronas piramidales de CA1. Adicionalmente, no encontramos cambios significativos en la Ra después de la aplicación de PGE₂ (alcanza un 99.5 \pm 1.9% del control, a los 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=9, figura 4B), descartando cambios en la interacción entre la pipeta de registro y la membrana celular durante los experimentos.

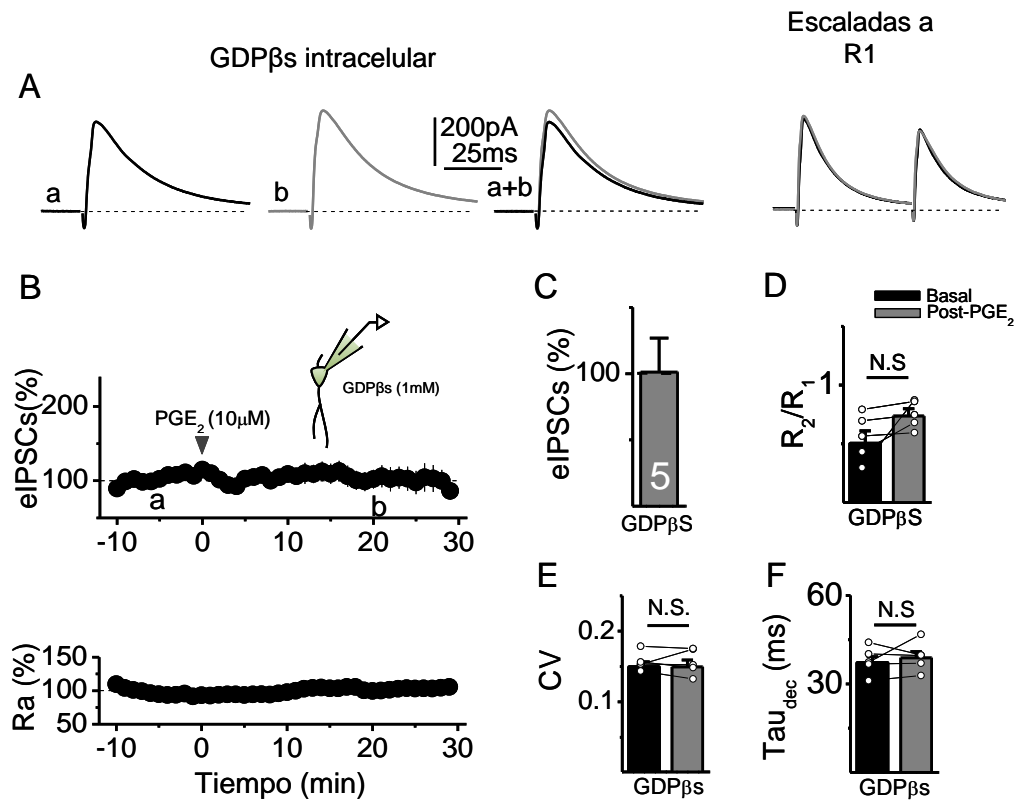


Figura 4. La PGE₂ requiere de receptores post-sinápticos acoplados a proteína G para deprimir la sinapsis GABAérgica. En **A**), a la izquierda, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 con GDPβs en la pipeta de registro, antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (b, trazo gris) **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran trazos de las eIPSCs evocadas por el PPP antes (trazo negro) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (trazo gris), se muestran escalados a la primera respuesta (R₁). En **B**), **arriba**, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo con GDPβs en la pipeta de registro, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂. **Abajo**, se muestra la resistencia de acceso (Ra) normalizada y graficada en función del tiempo (SW-test p=0.19 en el basal y p=0.98 20 minutos después de aplicada la PGE₂, T-test pareado p=0.23). En **C**), se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de aplicada la PGE₂ con GDPβs en la pipeta de registro (SW-test p=0.66 en el basal y p=0.38, 20 minutos después de aplicada la PGE₂, T-test pareado p=0.59). En **D**), se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (barra gris) con GDPβs en la pipeta de registro (SW-test p=0.92 en el basal y p=0.56, 20 minutos después de aplicada la PGE₂,

T-test pareado $p=0.13$). En **E**), se muestra el CV en el basal (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE_2 (barra gris) en el LCA (SW-Test $p=0.23$ en el basal y $p=0.42$, 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , T-test pareado $p=0.95$). En **F**), se muestra el promedio de Tau de la fase de caída (Tau_{dec}) de las eIPSCs antes (barra negra) y después (barra gris) de 20 minutos de la aplicación de PGE_2 (SW-test $p=0.93$ en el basal y $p=0.77$, a los 20 minutos desde la aplicación de PGE_2 , T-test pareado $p=0.58$). Los círculos blancos en D, E y F indican los valores individuales de cada célula antes y después de aplicar la PGE_2 . Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

Debido a que en los experimentos realizados anteriormente las eIPSCs fueron aisladas manteniendo a las células en el potencial de reversión de las corrientes excitatorias, 0mV (disección por voltaje, figuras 1 y 2). Decidimos descartar la participación de los receptores ionotrópicos para glutamato en la depresión de la transmisión GABAérgica sobre las neuronas piramidales de CA1 generada por la PGE_2 . Para esto, en otro set de experimentos utilizamos los antagonistas de los receptores NMDA y AMPA, APV (50 μ M) y CNQX (20 μ M) respectivamente. En estas condiciones, la aplicación de la PGE_2 deprime la amplitud de las eIPSCs a un $69.1 \pm 3.3\%$ del control ($n=5$, figura 5) y aumenta la RPP significativamente (0.83 ± 0.07 en el basal y un 0.95 ± 0.08 , a los 20 minutos después de aplicada la PGE_2 , $n=5$, figura 5D). Este resultado sugiere que la depresión de la amplitud de las eIPSCs que genera la PGE_2 no depende de la activación de los receptores ionotrópicos de glutamato.

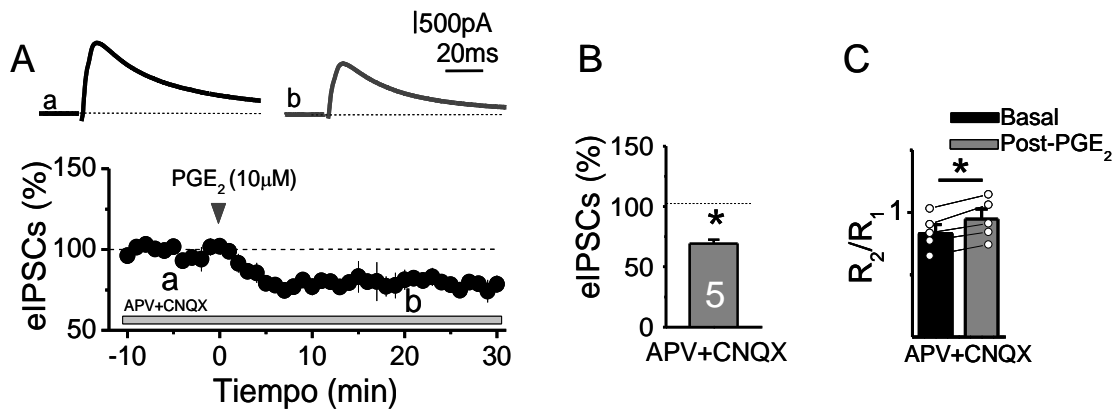


Figura 5. Los receptores ionotrópicos para glutamato no participan en la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por PGE₂. En **A**), arriba, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 en presencia de APV y CNQX antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Abajo**, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo en presencia de APV y CNQX, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂. En **B**) se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de aplicar la PGE₂ en presencia de APV+CNQX (SW-test $p=0.98$ en el basal y $p=0.72$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.02$). En **C**), se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris) en presencia de APV+CNQX (SW-Test $p=0.99$ en el basal y $p=0.86$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.0014$). Los círculos blancos en C indican los valores individuales de cada célula antes y después de aplicar la PGE₂. Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

5.4- La PGE₂ deprime la transmisión GABAérgica sobre las neuronas piramidales del área de CA1 del HPCd a través del receptor EP₃

Los receptores para la PGE₂ se expresan heterogéneamente en el HPC, por ejemplo, se ha descrito que el EP₃R se encuentra expresado en compartimientos tanto pre como post-sinápticos (Zhu et al., 2005). En roedores, el receptor EP₃ tiene 3 isoformas derivadas de *splicing* alternativos (EP₃ α , EP₃ β y EP₃ γ) (Zhu et al, 2005) y, los resultados de experimentos realizados en cultivos celulares sugieren que las isoformas EP₃ α y EP₃ γ funcionan como receptores con actividad

constitutiva (Jin et al., 1997; Hasegawa et. al., 1996). Adicionalmente, la COX-2, enzima clave en la síntesis de PGE₂, puede actuar tanto de manera constitutiva como inducible (Smith et al., 1996; Vane et al., 1998). Por lo tanto, decidimos determinar si el EP₃R puede modular la eficacia sináptica GABAérgica basal. Analizamos la amplitud de las eIPSCs antes y después de perfundir el antagonista del EP₃R (L-798, 100nM) en el LCA de registro. Observamos que el L-798 induce un aumento de la amplitud de las eIPSCs (desde 693.7±96.1pA en el basal hasta 892.6±44.1pA en presencia de L-798, n=3, figura 6B), lo que sugiere que el EP₃R tiene una actividad constitutiva que proporciona un mecanismo tónico persistente para afinar la transmisión sináptica GABAérgica.

En otro set de experimentos evaluamos la participación del EP₃R en la depresión de la transmisión GABAérgica generada por la PGE₂. Al incubar las rebanadas de HPCd con el antagonista del EP₃R (L-798, 100nM), la PGE₂ es incapaz de deprimir la amplitud de las eIPSCs, las que alcanzan un valor de 108.2±16.1% del control (n=9, figura 6E y F), sugiriendo que la PGE₂ requiere de la activación del EP₃R para deprimir la transmisión GABAérgica. Sin embargo, en presencia de L-798, la PGE₂ aún es capaz de aumentar significativamente la RPP (desde 0.56±0.05 en el basal y un 0.63±0.04, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=9, figura 6G). Por otro lado, al analizar el CV no encontramos diferencias significativas (desde 0.135±0.02 en el basal hasta 0.139±0.02, a los 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=9, figura 6H). Además, observamos que el tau_{dec} de las eIPSCs disminuye por la aplicación de la PGE₂ (desde 55.4±6.8ms en el basal hasta 33.4±3.4ms, a los 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=9, figura 6I). Estos resultados sugieren que la PGE₂ genera cambios en la cinética de la respuesta ya sea por un aumento en la tasa de desactivación o de desensibilización de los receptores GABA_A, probablemente a través de la activación de alguno de los otros receptores para PGE₂ (EP₁, EP₂ o EP₄). Para descartar que la aplicación de la PGE₂ deteriore la interacción de la pipeta con la membrana celular, medimos la Ra durante todo el experimento, la cual fue normalizada y graficada en función del tiempo como se muestra en la figura 6B. La aplicación de la PGE₂ no genera cambios significativos en la Ra, alcanzando un valor de 99.1±3.7%, del control, 20 minutos después de la aplicación de PGE₂, (n=9, figura 6B), descartando cambios en la interacción entre la pipeta y la membrana celular.

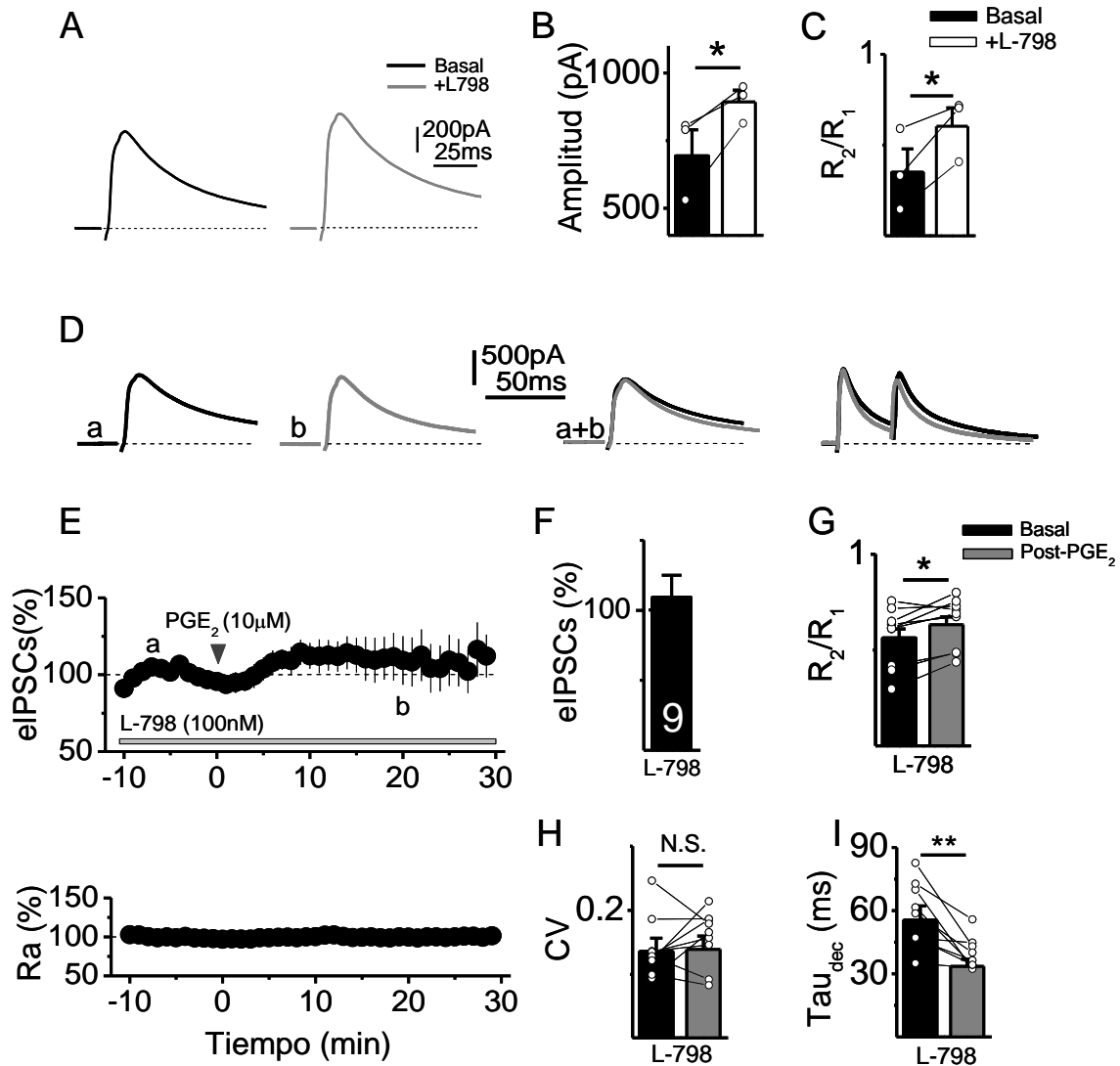


Figura 6. El receptor EP₃ modula la transmisión GABAérgica en las neuronas piramidales de CA1 del HPCd. En **A**), se muestran los trazos representativos de las eIPSCs en el basal (trazo negro) y después de perfundir el L-798 en el LCA de registro (trazo gris). En **B**), se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizada después de perfundir el L-798 en el LCA de registro (SW-Test $p=0.09$ en el basal y $p=0.59$ después de perfundir el L-798 en el LCA de registro, T-test pareado $p=0.013$). En **C**), se muestra la RPP antes (barra negra) y después de perfundir el L-798 (barra blanca) (SW-Test $p=0.81$ en el basal y $p=0.067$ después de perfundir el L-798, T-test pareado $p=0.035$). En **D**), **a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 en presencia del antagonista del EP₃R (L-798) antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran los trazos de las eIPSCs evocadas por el PPP antes (trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (trazo gris), se encuentran escalados a la primera respuesta (R₁). En **E**), **arriba**, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo en presencia de L-798, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la

PGE₂. **Abajo**, se muestra la resistencia de acceso (Ra) normalizada y graficada en función del tiempo en presencia de L-798 (SW-Test $p=0.055$ en el basal y $p=0.74$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.47$). En **F**, se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de aplicar la PGE₂ en presencia de L-798 (SW-test $p=0.23$ en el basal y $p=0.09$, y 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.20$). En **G**, se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris) en presencia de L-798 (SW-test $p=0.47$ en el basal y $p=0.22$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.032$). En **H**, se muestra el CV en el basal (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris) en presencia de L-798 (SW-Test $p=0.16$ en el basal y $p=0.25$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.87$). En **I**, se muestra el promedio de Tau de la fase de caída (Tau_{dec}) de las eIPSCs antes (barra negra) y después (barra gris) de 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (SW-test $p=0.57$ en el basal y $p=0.057$, a los 20 minutos desde la aplicación de PGE₂, T-test pareado $p=0.009$). Los círculos blancos indican los valores individuales de cada célula antes y después de aplicar la PGE₂. Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

5.5- La depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por la PGE₂ depende de proteínas quinasas

La PGE₂ genera modificaciones en la eficacia sináptica a través del control de la actividad de proteínas quinasas, como por ejemplo el EP₃R bloquea la acción de la AC, disminuye la producción de AMPc y con ello la actividad de la PKA (Yang and Chen, 2008; Khazaeipool et al., 2018). Para determinar si la depresión de la transmisión GABAérgica generada por la PGE₂ en el HPCd depende de proteínas quinasas, las rebanadas de HPCd fueron pre-incubadas con el inhibidor no específico de la PKA, H89 (10μM). En estas condiciones la PGE₂ no deprime la amplitud de las eIPSCs, alcanzando un valor de 95.2±9.2% del control (n=4, figura 7B y C). Por otro lado, en presencia de H89, la PGE₂ no aumentó significativamente la RPP (0.39±0.1 en el basal y un 0.61±0.07, 20 minutos después de aplicada la PGE₂, n=4, figura 7D). Tampoco encontramos diferencias significativas en el CV (desde 0.16±0.02 en el basal hasta 0.17±0.01, 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=4, figura 7E) o en el tau_{dec} de las eIPSCs (desde 25.9±4.1ms en el basal hasta 24.2±3.2ms, 20 minutos después de la aplicación de la PGE₂, n=4, figura 7F). En conjunto, estos resultados sugieren la participación de proteínas quinasas, como la PKA, en la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por la PGE₂. Para descartar que durante el experimento se deteriore la interacción de la pipeta con la membrana celular medimos la Ra. No encontramos cambios significativos en la Ra durante los experimentos en presencia de H89 en el LCA de registro (alcanza un 99.3±3.5% del control a los 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=4, figura 7B), descartando cambios en la interacción entre la pipeta de registro y la membrana celular durante los experimentos.

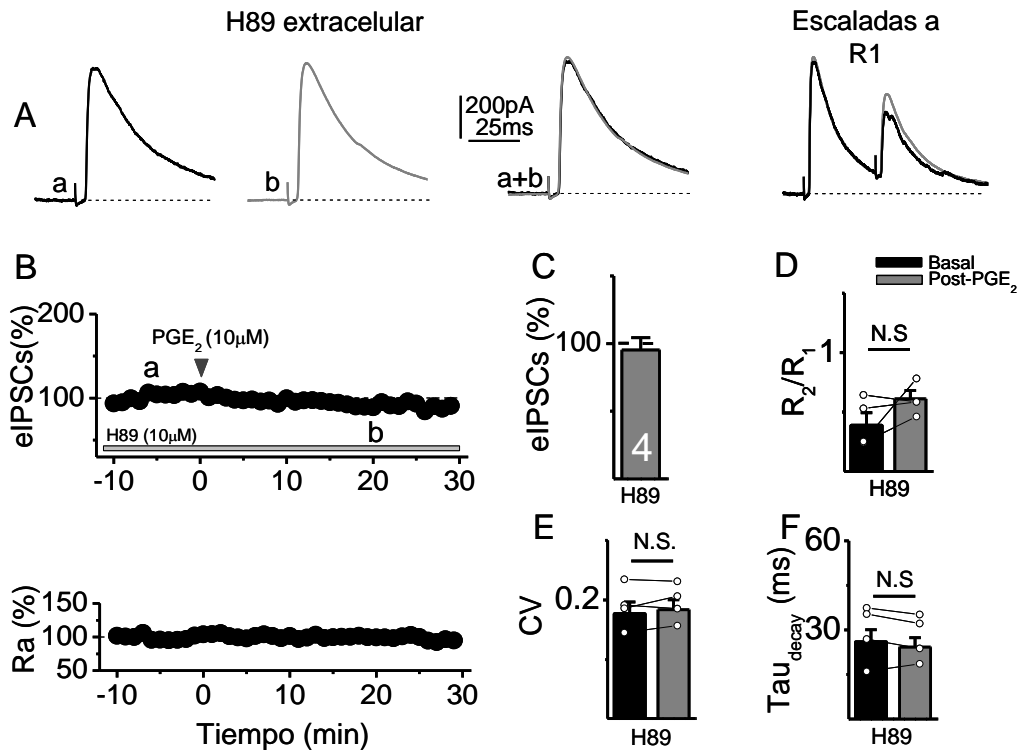


Figura 7. La inhibición de proteínas quinasas impide la depresión de la amplitud de las eIPSCs generada por PGE₂. En **A**), a la izquierda, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 en presencia de H89, antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (b, trazo gris) **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran trazos de las eIPSCs evocadas por el PPP antes (trazo negro) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (trazo gris), se muestran escalados a la primera respuesta (R₁). En **B**), **arriba**, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo en presencia de H89, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂. **Abajo**, se muestra la resistencia de acceso (Ra) normalizada y graficada en función del tiempo, (SW-Test p=0.13. en el basal y p=0.58, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.33). En **C**), se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de aplicada la PGE₂ en presencia de H89 (SW-Test p=0.26 en el basal y p=0.47, 20 minutos después de aplicada la PGE₂, T-test pareado p=0.53). En **D**), se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (barra gris) en presencia de H89 (SW-Test p=0.05 en el basal y p=0.84, 20 minutos después de aplicada la PGE₂, T-test pareado p=0.10). En **E**), se muestra el CV en el basal (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris) en presencia de H89 (SW-Test p=0.87 en el basal y p=0.79, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.22). En **F**), se

muestra el promedio de Tau de la fase de caída (Tau_{dec}) de las eIPSCs antes (barra negra) y después (barra gris) de 20 minutos de la aplicación de PGE_2 (SW-test $p=0.5$ en el basal y $p=0.7$, a los 20 minutos desde la aplicación de PGE_2 , T-test pareado $p=0.35$). Los círculos blancos en D, E y F indican los valores individuales de cada célula antes y después de aplicar la PGE_2 . Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

5.6- La depresión de la sinapsis GABAérgica generada por la PGE_2 es específica en las entradas sinápticas inhibitorias del *stratum pyramidale*

En los experimentos anteriores, las corrientes inhibitorias fueron evocadas en el *stratum pyramidale*, donde se estimulan principalmente las sinapsis inhibitorias perisomáticas que regulan el disparo de potenciales de acción de las neuronas piramidales de CA1. Sin embargo, desconocemos si la PGE_2 también puede deprimir las eIPSCs evocadas en el *stratum radiatum*, donde se encuentran los terminales axónicos de interneuronas que inervan la dendrita apical y regulan principalmente la integración de los potenciales sinápticos (Forro et al., 2015; Klausberger and Somogyi, 2008; Pelkey et al., 2017). Para determinar si la PGE_2 puede deprimir las sinapsis inhibitorias en la dendrita apical de las neuronas piramidales, posicionamos el electrodo de estimulación en el *stratum radiatum* como se muestra en el esquema simplificado de la figura 8A. En estas condiciones, la PGE_2 no deprime la amplitud de las eIPSCs que fueron evocadas en el *stratum radiatum* (alcanza un $99.8 \pm 11.8\%$ del control, 20 minutos después de aplicar la PGE_2 , $n=4$, figura 8), a diferencia de las respuestas evocadas en el *stratum pyramidale* (figura 2). Sin embargo, es interesante el aumento significativo de la RPP (desde 0.56 ± 0.05 en el basal hasta un 0.89 ± 0.08 , 20 minutos después de aplicada la PGE_2 , $n=4$, figura 8C). Estos resultados sugieren que la PGE_2 tiene un efecto pre-sináptico en el *stratum radiatum*, probablemente por una disminución en la probabilidad de liberación de GABA. A diferencia de los registros obtenidos mediante la estimulación en el *stratum pyramidale*, donde observamos una depresión que involucra cambios en la pre y post-sinapsis.

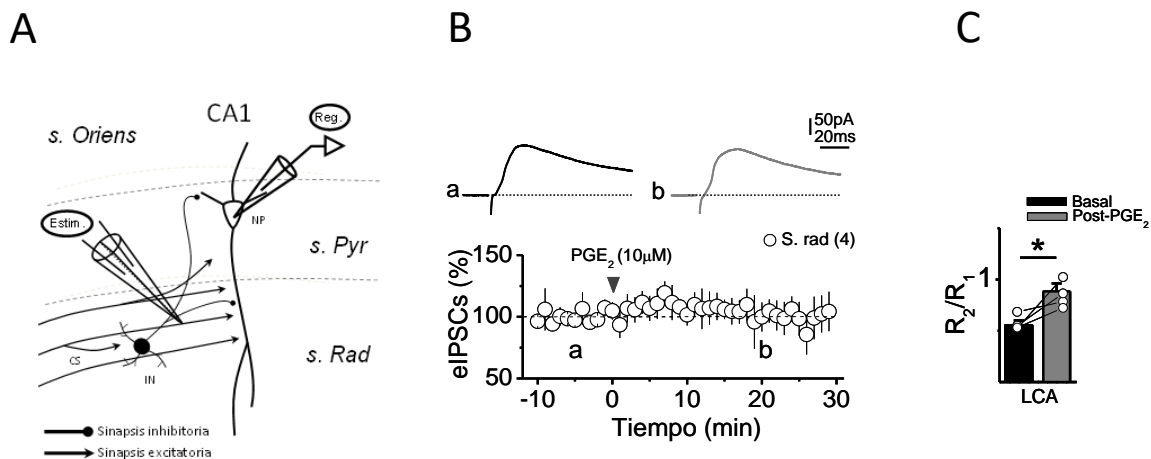


Figura 8. La PGE₂ aumenta la razón por pulsos pareados, pero no deprime la amplitud de las eIPSCs evocadas en el *stratum radiatum*. En **A**), un esquema simplificado, que muestra solo algunas vías inhibitorias y excitatorias en el área CA1 del HPC. En el esquema se representa a una neurona piramidal de CA1 siendo registrada con la técnica de *patch-clamp* a través de una pipeta de vidrio con un electrodo de plata en su interior (reg). En negro se esquematiza una interneurona GABAérgica, que representa la sinapsis inhibitoria sobre la neurona piramidal de CA1, además, muestran los axones que provienen desde las neuronas piramidales de CA3 las cuales son glutamatérgicas y representan la sinapsis excitatoria sobre la neurona piramidal de CA1. Las líneas punteadas delimitan al *stratum pyramidale* (*S. Pyr*), *stratum radiatum* (*S. Rad*) y el *stratum Oriens* (*S.O*). El electrodo de estimulación (Estim) se encuentra ubicado en el *S. Rad*. En **B**), **arriba**, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en una neurona piramidal de CA1 a un potencial de mantención de 0mV y evocadas en el *S. rad* como se muestra en A. El trazo negro (a) es el registro basal y el trazo gris (b) 20 minutos después de aplicar la PGE₂. **Abajo**, se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂ (SW $p=0.069$ en el basal y $p=0.93$, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado $p=0.15$). C), se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicada la PGE₂ (barra gris) (SW-Test $p=0.085$ en el basal y $p=0.72$, 20 minutos después de aplicada la PGE₂, T-test pareado $p=0.049$). En los gráficos se muestra el valor promedio \pm SEM.

5.7- La PGE₂ deprime pre-sinápticamente un subgrupo específico de sinapsis GABAérgicas

En el *stratum pyramidale* podemos encontrar dos grandes grupos de interneuronas que, por un lado, expresan el receptor μ O (interneuronas PV⁺) o, por otro lado, el receptor CB1 (interneuronas CCK⁺), pero ambos receptores no se co-expresan en las mismas interneuronas (Glickfeld et al., 2008; Nugent et al., 2007). Tanto μ OR como CB1R se encuentran acoplados a proteína Gi e inhiben la vía AC-AMPC-PKA, lo que puede reducir la liberación de GABA en el HPC. Tomando en cuenta la diferencia en la expresión de ambos receptores en las terminales GABAérgicas decidimos determinar si la incubación de las rebanadas de HPCd con Damgo (3 μ M) un agonista μ OR (Chevaleyre and Piskorowski, 2014; Drake and Milner, 2002) ocluye la depresión de las eIPSCs generada por la PGE₂, por medio de la reducción o bloqueo de la liberación de GABA. Nuestros resultados indican que en presencia de Damgo, la PGE₂ es incapaz de deprimir significativamente la amplitud de las eIPSCs, alcanzando un 95.1 \pm 20.7% del control (n=6, figura 9B y C). Sin embargo, en las mismas condiciones, la PGE₂ aumenta significativamente la RPP (0.65 \pm 0.04 en el basal y un 0.83 \pm 0.06, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=6, figura 9D). Estos resultados sugieren que las sinapsis inhibitorias insensibles a la activación del μ OR, son deprimidas por la PGE₂ a nivel pre-sináptico, probablemente por una disminución de la probabilidad de liberación de GABA.

5.7.1- La PGE₂ deprime post-sinápticamente un subgrupo específico de sinapsis GABAérgicas

En otro set de experimentos, decidimos determinar si la incubación de las rebanadas de HPCd con WIN (5 μ M), un agonista de CB1R (Ahumada et al., 2013; Chevaleyre and Piskorowski, 2014; Katona et al., 1999) ocluye la depresión de la transmisión inhibitoria generada con la PGE₂ por medio de la reducción o bloqueo de la liberación de GABA. En estas condiciones, la PGE₂ si genera una depresión significativa de la amplitud de las eIPSCs, alcanzando un 77.4 \pm 9.5% del control (n=7, figura 9F y G). Sin embargo, en presencia de WIN, la PGE₂ no aumenta la RPP (0.71 \pm 0.06 en el basal y un 0.72 \pm 0.04 post aplicación de PGE₂, n=7, figura 9H). Estos resultados sugieren que las sinapsis inhibitorias insensibles a la activación del CB1R, son deprimidas por la PGE₂ a través de un

mecanismo post-sináptico, que puede ser por la disminución del número de receptores o su conductancia.

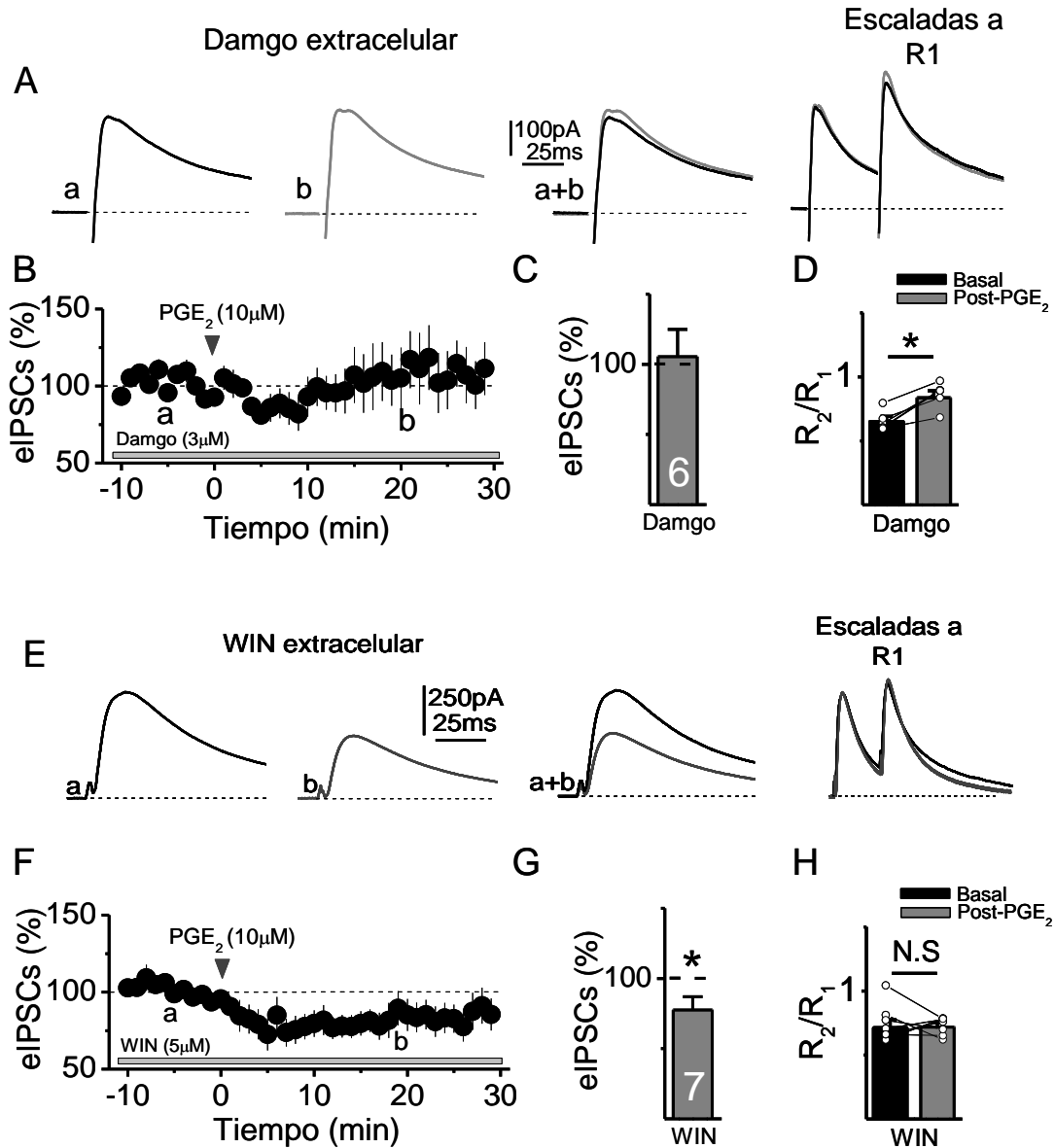


Figura 9. La PGE₂ deprime de manera diferencial distintas entradas GABAérgicas sobre las neuronas piramidales de CA1. En A), a la izquierda, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 en presencia de damgo, antes (a, trazo negro) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (b, trazo gris). Al medio, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). A la derecha, se muestran los trazos de las eIPSCs evocadas con el PPP antes (trazo negro) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (trazo gris), se encuentran escalados a la primera respuesta (R₁). En B), se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo en presencia de damgo, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂. En C), se muestra

el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de la aplicación de PGE₂ en presencia de damgo (SW-Test $p=0.35$ en el basal y $p=0.33$, 20 minutos de la aplicación de PGE₂, T-test pareado $p=0.97$). En **D**), se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (barra gris) en presencia de damgo (SW-test $p=0.85$ en el basal y $p=0.67$ después de 20 minutos de la aplicación de PGE₂, T-test pareado $p=0.004$). En **E**), **a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 en presencia de WIN, antes (a, trazo negro) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (b, trazo gris) **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran los trazos de las eIPSCs evocadas por el PPP antes (trazo negro) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (trazo gris), se encuentran escalados a la primera respuesta (R_1). En **F**), se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo en presencia de WIN, la cabeza de flecha indica el momento que se aplica la PGE₂. En **G**), se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs 20 minutos después de la aplicación de PGE₂ en presencia de WIN (SW-test $p=0.097$ en el basal y $p=0.22$, 20 minutos de la aplicación de PGE₂, T-test pareado $p=0.039$). En **H**), se muestra la RPP antes (barra negra) y 20 minutos de la aplicación de PGE₂ (barra gris) en presencia de WIN (SW-test $p=0.32$ en el basal y $p=0.85$, 20 minutos de la aplicación de PGE₂, T-test pareado $p=0.47$). Los círculos blancos en D y H indican los valores individuales de cada célula antes y después de aplicar la PGE₂. Los gráficos muestran el valor promedio \pm SEM.

6-Discusión

6.1- La PGE₂ deprime la transmisión sináptica inhibitoria en el HPCd

Los resultados de este trabajo sugieren que la PGE₂ deprime la eficacia sináptica GABAérgica en las neuronas piramidales de la región de CA1 del HPCd, una estructura cerebral importante para procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria espacial (Broadbent et al., 2004; Jones and Wilson, 2005; Fanselow and Dong, 2010; Preston and Eichenbaum, 2013). Adicionalmente, nuestros experimentos muestran que el receptor EP₃ juega un papel importante en la depresión de la amplitud de las eIPSCs que genera la PGE₂. Sugiriendo que la PGE₂ modula la transmisión sináptica GABAérgica a través de la activación del receptor EP₃. En el SN, los EPR controlan la actividad tanto de neuronas como de células gliales (Bezzi et al., 1998; Sanzgiri et al., 1999; Akaneya, 2008; Yang and Chen, 2008; Chen and Bazan, 2005b; Sugimoto and Narumiya, 2007). Se ha descrito que la PGE₂ potencia o deprime la eficacia sináptica en diferentes estructuras del SNC (Akaneya and Tsumoto 2006; Sang et al., 2005; Khazaeipool et al., 2018; Laaris and Weinreich, 2007; Li et al., 2018). Por ejemplo, en la corteza visual la PGE₂ regula a nivel post sináptico la potenciación excitatoria (Akaneya and Tsumoto 2006). En la sinapsis CA3-CA1 del HPC aumenta la probabilidad de liberación de glutamato (Sang et al., 2005). En el hipotálamo disminuye la probabilidad de liberación de GABA (Khazaeipool et al., 2018). En el núcleo del tracto solitario disminuye la eficacia sináptica excitatoria (Laaris and Weinreich, 2007). En el asta dorsal de la médula espinal participa en la potenciación dependiente de actividad de la sinapsis glutamatérgica (Li et al., 2018). En el HPC, los cuatro tipos de receptores metabotrópicos para la PGE₂ se encuentran expresados heterogéneamente (Zhu et al., 2005). Aunque no se han descrito diferencias en la expresión o función de los receptores para PGE₂ en el eje dorsal-ventral del HPC. Se encuentra bien documentado que las conexiones, propiedades electrofisiológicas, expresión génica y la plasticidad dependiente de actividad de las neuronas son diferentes entre el HPC dorsal y ventral (Malik et al., 2016; Milior et al., 2016; Tidball et al., 2017; Trompoukis and Papatheodoropoulos, 2000;

Maruki et al., 2001) lo que hace importante estudiar ambas áreas por separado. Nuestros datos son importantes para entender el papel que juega la PGE₂ en la regulación de la eficacia de la transmisión sináptica inhibitoria en el circuito del HPCd y, en consecuencia, en las funciones cognitivas que dependen de esta estructura, como la memoria episódica, memoria de trabajo, memoria espacial, memoria de corto plazo y memoria de miedo al contexto (Dong et al., 2009; Fanselow and Dong, 2010; Malik et al., 2016; Milior et al., 2016; Hein et al., 2007). La depresión de la transmisión inhibitoria generada por la aplicación de PGE₂ es acompañada de un aumento de la RPP, lo que sugiere una disminución de la probabilidad de liberación de GABA. Entre los componentes pre-sinápticos que podrían estar involucrados en la generación de la depresión de las corrientes inhibitorias están los que son dependientes y los que son independientes de potenciales de acción. La disminución de la frecuencia de las mIPSCs sugiere que la PGE₂ deprime la transmisión inhibitoria de manera independiente del disparo de potenciales de acción, como la disminución de la probabilidad de liberación del neurotransmisor y/o el número de sitios de liberación. Descartando los componentes dependientes de potenciales de acción de las sinapsis inhibitorias que sinaptan con las neuronas piramidales de CA1 y las sinapsis que conectan con las interneuronas GABAérgicas rio arriba. Por otro lado, la PGE₂ no genera cambios en el CV, sugiriendo que el mecanismo activado por la PGE₂ también tiene un componente post-sináptico. De manera interesante, al bloquear las proteínas G en la post-sinapsis con GDPβs en la pipeta de registro (figura 4) la PGE₂ es incapaz de generar la depresión de la amplitud de las eIPSCs. Esto sugiere que la PGE₂ requiere de la activación de proteína G en las neuronas piramidales para deprimir la transmisión sináptica inhibitoria en la región de CA1 del HPCd. En estas condiciones, la RPP aumenta en dos de cinco células registradas después de la aplicación de la PGE₂. Es probable que la PGE₂ active, en un subgrupo de interneuronas un mecanismo pre-sináptico y en otro subgrupo de interneuronas un mecanismo post-sináptico. Por lo tanto, cuando utilizamos GDPβs, este bloquea el mecanismo post-sináptico impidiendo la depresión de la amplitud de las eIPSCs. Por otro lado, las células en que aumenta la RPP pueden ser parte del grupo de interneuronas en el que la PGE₂ genera una disminución de la transmisión inhibitoria pre-sináptica. Sin embargo, es necesario aumentar el número de experimentos para disminuir el valor promedio del error estándar y corroborar estos resultados.

La PGE₂ activa o inhibe la vía intracelular AC-AMPC-PKA a través de sus receptores asociados a proteína G (Yang and Chen, 2008). A nivel pre-sináptico la PKA puede fosforilar proteínas de la maquinaria de liberación de neurotransmisor para aumentar la liberación de este (Chevalleyre et al., 2007). Por otro lado, en células de cultivo, también se ha descrito que la PKA puede fosforilar las subunidades $\beta 1$ o $\beta 3$ del receptor ionotrópico GABA_A, lo que determina el aumento o disminución de su conductancia (Connelly et al., 2013). En el HPCd, es posible que la PGE₂ deprima la eficacia sináptica GABAérgica a través de la disminución de la actividad de la PKA. En presencia de H89, un inhibidor no selectivo de la PKA (Davies et al., 2000; Lochner and Moolman, 2006), no observamos la depresión de la amplitud de las eIPSCs después de la aplicación de la PGE₂ (figura 7) y tampoco encontramos un aumento significativo de la RPP. Aunque, específicamente en dos de cuatro células la PGE₂ si generó un aumento de la RPP y en las otras dos no (figura 7D). En conjunto con los demás resultados, hipotetizamos que la PGE₂ puede activar dos mecanismos para deprimir la transmisión inhibitoria, tanto en la pre como en la post-sinapsis. Es probable que el mecanismo post-sináptico que proponemos, sea a través de la disminución de la actividad de la PKA. Por otro lado, estos experimentos en presencia de H89 no excluyen la participación de otra proteína quinasa, como la PKC, cuya vía de señalización es activada por el receptor EP₁ (Sachs et al., 2009; Yang and Chen, 2008; Zhu et al., 2005; Yang et al., 2015). Es posible que el efecto de la PGE₂ sobre las sinapsis inhibitorias en las cuales aumenta la RPP sea a través de un mecanismo pre-sináptico dependiente de la activación de la PKC. Sin embargo, es necesario utilizar otros inhibidores más específicos tanto para la PKA como para la PKC para evaluar su participación en la depresión de la transmisión inhibitoria generada por la PGE₂.

El receptor EP₃ se encuentra acoplado a una proteína Gi que inhibe la vía AC-AMPC-PKA (Yang and Chen, 2008). Por otra parte, en el HPC, el EP₃R se encuentra expresado principalmente en compartimientos post-sinápticos, sin embargo, también se puede observar en la pre-sinapsis, aunque en un porcentaje menor (Zhu et al., 2005). De manera interesante, la perfusión del antagonista del EP₃R, L-798, aumenta la amplitud de las eIPSCs y la incubación previa con L-798 ocluye la depresión de la transmisión inhibitoria generada por la PGE₂ (figura 6). Existen 3 isoformas derivadas de *splicing* alternativos del receptor EP₃ (α , β y γ), las cuales se encuentran expresadas

en el HPC de modelos murinos (Zhu et al, 2005). De estos receptores, se ha descrito en cultivos celulares, que el EP₃α y EP₃γ, tienen una actividad constitutiva (Jin et al., 1997; Hasegawa et. al., 1996), que podrían ser responsables del aumento de la amplitud de las eIPSCs que provoca la perfusión de L-798. Adicionalmente, nuestros resultados sugieren fuertemente que la PGE₂ deprime la transmisión sináptica GABAérgica a través de la activación del EP₃R. Es posible que el efecto post-sináptico que genera la PGE₂ sea a través de la isoforma β del EP₃R, en las neuronas piramidales de la región de CA1. Por otro lado, la COX-2, enzima clave en la síntesis de PGE₂, puede actuar tanto de manera constitutiva como inducible (Smith et al., 1996; Vane et al., 1998). Se ha propuesto que la PGE₂ derivada de la COX-2 constitutiva, regula la transmisión sináptica basal y la PGE₂ derivada de la COX-2 inducible puede contribuir a la plasticidad sináptica dependiente de actividad (Sang et al., 2005). Es posible que la COX-2 con actividad constitutiva mediante la acción de la PGE₂ sea clave para proporcionar un mecanismo tónico para mantener deprimida la transmisión sináptica GABAérgica basal. Por otro lado, la PGE₂, sintetizada por la COX-2 inducible puede jugar un papel clave en la plasticidad sináptica inhibitoria dependiente de la actividad neuronal en el circuito hipocampal.

En presencia de L-798, aunque en una proporción menor que en el experimento control (figura 2), la PGE₂ aún es capaz de aumentar significativamente en la RPP. Este resultado se puede explicar por la posible participación de los otros receptores para PGE₂ (EP₁, EP₂ o EP₄) los cuales no hemos evaluado con sus respectivos antagonistas, y que también pueden generar cambios en la eficacia sináptica (Yang and Chen 2008). Por ejemplo, los receptores para PGE₂ se encuentran expresados en los astrocitos (Zhu et al, 2005) y la PGE₂ induce la liberación de glutamato astrogliar (Bezzi et al., 1998; Sanzgiri et al., 1999). En el HPC, la activación de los astrocitos genera una potenciación de la transmisión glutamatérgica sobre las neuronas piramidales de CA1 (Perea and Araque, 2007). También se ha descrito que la actividad de interneuronas GABAérgicas, por medio de los receptores GABA_B expresados en los astrocitos, inducen un aumento de calcio intracelular, generando la liberación de gliotransmisores lo que induce un aumento de la probabilidad de la liberación de glutamato en el HPC (Perea et al., 2016). Adicionalmente, en la región de CA1, los astrocitos, a través de receptores A₁ deprimen las respuestas inhibitorias evocadas por estimulación

de interneuronas somatostatina positivas (SOM⁺) y registradas en las neuronas piramidales de CA1 (Matos et al., 2018). Es posible que la PGE₂ a través de la activación de alguno de los receptores EP₁, EP₂ o EP₄ genere un aumento de calcio intracelular en los astrocitos y por medio de la liberación de un gliotransmisor aumenten la RPP en presencia de L-798. Si la PGE₂ por medio de la activación de los astrocitos deprime la eficacia sináptica inhibitoria puede ser un mecanismo importante en la integración de la información en el circuito del HPCd y en las funciones cognitivas que dependen de esta estructura (Li et al., 2020; Hein et al., 2007; Fanselow and Dong, 2010). Por otro lado, si bien el aumento o disminución de la RPP se asocia principalmente a modificaciones pre-sinápticas, también hay factores post-sinápticos que pueden generar cambios en la RPP, como la tasa de desactivación y de recuperación de la desensibilización de los receptores ionotrópicos (Kirischuk et al., 2002; von Engelhardt et al., 2010; Guzman and Jonas 2010; Dawe et al., 2013). Nosotros observamos que la PGE₂ disminuye el τ_{dec} de las eIPSCs, tanto en el experimento control (figura 2) como en presencia de L-798 (figura 6). Sin embargo, cuando aplicamos la PGE₂ utilizando GDP β s en la pipeta de registro o en presencia de H89 en el LCA no observamos cambios en el τ_{dec} de las eIPSCs (figura 4 y 7). Estos resultados sugieren que la PGE₂ a través de los EPR de tipo 1, 2 o 4 acoplados a proteínas G en las neuronas piramidales de la región de CA1, modula la tasa de desactivación y/o en la tasa de recuperación de la desensibilización de los GABA_AR. De esta manera, los receptores GABA_A pueden volver a su estado cerrado más rápido y estar listos para ser activados por el GABA liberado en el segundo estímulo del protocolo de pulsos pareados, haciendo que la segunda respuesta aumente de amplitud y con ello la RPP. Tomando en consideración que la PGE₂ también potencia la transmisión excitatoria aumentando la probabilidad de liberación de glutamato (Sang et al., 2005), utilizamos los antagonistas para los receptores NMDA y AMPA para descartar su participación en la depresión de la transmisión GABAérgica. En estas condiciones la PGE₂ también es capaz de generar la depresión de la amplitud de las eIPSCs (figura 5), lo que sugiere que el efecto de la PGE₂ es sobre la sinapsis inhibitoria y no a través de los receptores ionotrópicos glutamatérgicos. Sin embargo, la RPP en el registro basal es mayor en las eIPSCs registradas en presencia de los antagonistas glutamatérgicos que las eIPSCs aisladas por el potencial de reversión de las sinapsis glutamatérgicas, 0mV (figura 2). Adicionalmente, el aumento en la RPP generado por

la PGE₂ es en proporción menor en presencia de APV y CNQX que en el experimento control (figura 2 y 5). Aun así, en estas condiciones, la PGE₂ genera un aumento de la RPP, sugiriendo una disminución de la probabilidad de liberación de la sinapsis GABAérgica. Esta diferencia en la RPP entre ambos experimentos puede sugerir que, por un lado, los receptores NMDA o AMPA mantienen aumentada la probabilidad de liberación de GABA basal y, por otro lado, el efecto de la PGE₂ sobre la sinapsis excitatoria puede contribuir en el aumento de la RPP de las eIPSCs. En conjunto con los experimentos anteriores, es posible que el aumento de la RPP en presencia de L-798 se deba al efecto de la PGE₂ sobre la transmisión excitatoria, ya sea sobre las interneuronas inhibitorias o las neuronas piramidales de la región de CA1.

Las interneuronas GABAérgicas del área de CA1 dorsal juegan un papel crucial en la memoria espacial (Yu et al., 2018). Adicionalmente, la activación de los receptores GABA_A en el área de CA1 dorsal deteriora la consolidación de la memoria del miedo al contexto (Misane et al., 2012). En las enfermedades neuropsiquiátricas se ha observado una hipofunción de las interneuronas PV⁺, lo que sugiere un papel relevante de este tipo de interneuronas en la génesis y/o establecimiento de diversas enfermedades psiquiátricas (Hu et al., 2015; Kaar et al., 2019; McNally et al., 2013; Pérez et al., 2019; Ruden et al., 2021). Las interneuronas que forman las sinapsis perisomáticas en el *stratum pyramidale* son esenciales para la integración de los potenciales sinápticos, lo que es importante en la regulación del disparo de potenciales de acción de las neuronas piramidales de CA1 (Miles et al., 1996). A diferencia de las sinapsis GABAérgicas en el *stratum radiatum*, que se encuentran más distales del soma de las neuronas piramidales y que controlan la sumación y propagación de potenciales sinápticos en la dendrita (Miles et al., 1996). Nosotros encontramos que la PGE₂ no deprime la amplitud de las eIPSCs obtenidas por estimulación en el *stratum radiatum* (figura 8) pero si aumenta la RPP. Esto sugiere que a diferencia del *stratum pyramidale*, en el *stratum radiatum* la PGE₂ tiene un efecto pre-sináptico, probablemente por una disminución de la probabilidad de liberación de GABA, sin generar modificaciones post-sinápticas. Las interneuronas del área de CA1 del HPC se pueden dividir en dos grandes grupos celulares, las interneuronas PV⁺ que expresan el μ OR, y las CCK⁺, las cuales expresan el CB1R (Chevaleyre and Piskorowski, 2014; Pelkey et al., 2017). La expresión diferencial de ambos receptores permite usar los agonistas de

μ OR o CB1R para inhibir la vía de señalización AC-AMPC-PKA por separado en ambos grupos de interneuronas. Nuestros datos sugieren que en las sinapsis inhibitorias que no son deprimidas por el μ OR, la PGE₂ genera una depresión pre-sináptica y en las sinapsis inhibitorias que no son deprimidas por el CB1R la PGE₂ genera una depresión post-sináptica (figura 10). Estos datos sugieren que la PGE₂ tiene diferentes efectos dependiendo de la entrada sináptica inhibitoria que se estimule. Considerando la distribución de las interneuronas en el área de CA1 del HPC, es posible que en el *stratum pyramidale* la activación de los receptores para PGE₂ como el EP₃R que se encuentra expresado principalmente en la post-sinapsis (Zhu et. al., 2005) sea importante para generar la depresión de la amplitud de las corrientes inhibitorias. Por otro lado, los cambios pre-sinápticos que se observan tanto en el *stratum radiatum* como *pyramidale* se pueden deber a una disminución de la probabilidad de liberación por medio de la activación de receptores para PGE₂ en los terminales pre-sinápticos o en los astrocitos (figura 10). En base a los resultados obtenidos, proponemos que la PGE₂ deprime diferentes tipos de interneuronas inhibitorias por al menos dos mecanismos diferentes, uno pre y otro post-sináptico, probablemente mediante una disminución en la probabilidad de liberación de GABA y/o por una disminución en el número o en la conductancia de los receptores GABA_A. La diferencia en los efectos observados por la aplicación de PGE₂ se puede deber a los distintos tipos de interneuronas que se encuentran en el HPCd. Por ejemplo, es posible que las interneuronas en canasto PV⁺ que se encuentran en el *stratum pyramidale* sean deprimidas por mecanismos post-sinápticos como la disminución del número o de la conductancia de los receptores GABA_A. En cambio, las interneuronas en canasto CCK⁺ que inervan el soma y la dendrita principal o las interneuronas asociadas a las colaterales de *Schaffer* cuyos axones inervan la dendrita apical y las dendritas basales, podrían estar siendo deprimidas por mecanismos pre-sinápticos como la disminución de la probabilidad de liberación o la cantidad de neurotransmisor en las vesículas sinápticas (tamaño *quanta*).

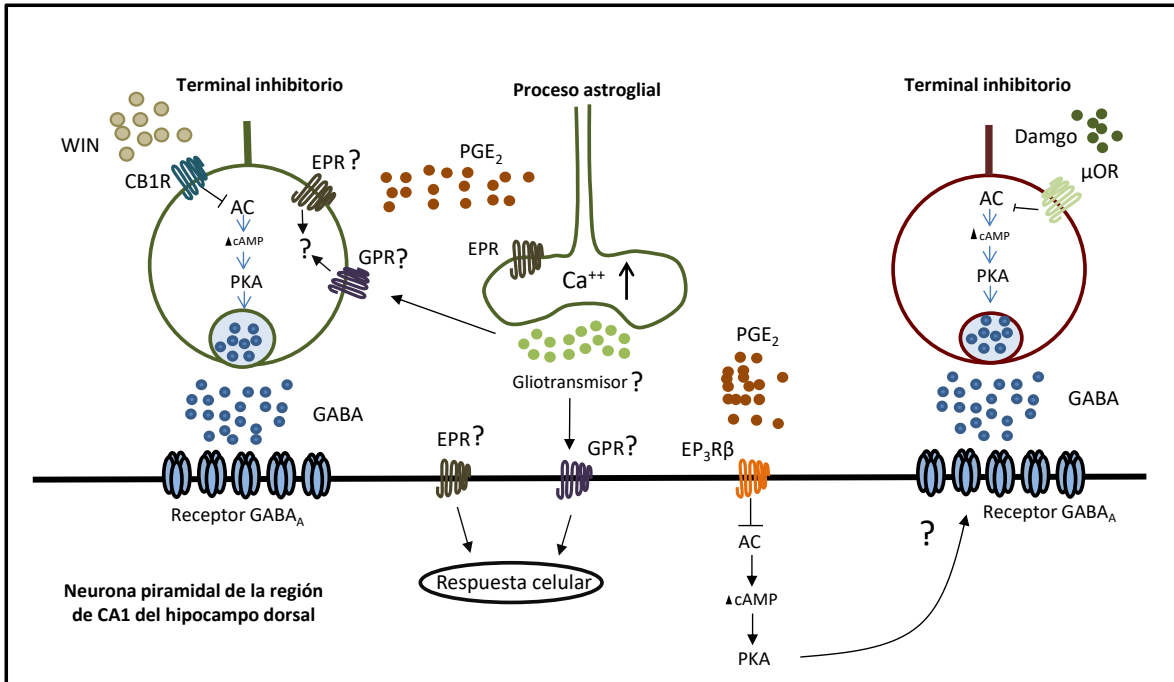


Figura 10. Esquema del mecanismo hipotético que activa la PGE₂ para deprimir la transmisión GABAérgica en el hipocampo dorsal. En la imagen se muestran dos entradas inhibitorias, que representan las sinapsis GABAérgicas moduladas por los receptores CB1 y μO (receptor de cannabinoide tipo 1 y de mu opioide, respectivamente). Se esquematizan los posibles mecanismos utilizados por la PGE₂ para deprimir la transmisión GABAérgica. Un posible mecanismo post-sináptico estaría mediado por el la activación del EP₃Rβ (receptor para PGE₂ tipo 3β) y la inhibición de la vía intracelular adenilato ciclasa (AC), AMP cíclico (AMPc) y proteína quinasa A (PKA). Aunque los *splicing* alternativos EP₃Rα y EP₃Rγ no se muestran en el esquema, es posible que controlen la transmisión GABAérgica basal, manteniendo deprimida la sinapsis inhibitoria. Al ser bloqueados por el antagonista del EP₃R, L-798, se inhibe el control mediado por EP₃Rα o EP₃Rγ provocando un aumento de la amplitud de las corrientes inhibitorias. Por otro lado, en el esquema se muestran los receptores para PGE₂ (EPR) tanto en neuronas como en astrocitos, donde la expresión de algún tipo de EPR podría también participar en la depresión de la sinapsis inhibitoria. Por ejemplo, en la imagen se puede observar que la activación de los EPR aumentaría la concentración de calcio (Ca⁺⁺) intracelular en los astrocitos, lo que desencadena la liberación de un gliotransmisor que modula la eficacia sináptica inhibitoria a nivel pre o post-sináptico a través de la activación de un receptor para gliotransmisor (GPR).

La regulación de la sinapsis inhibitoria es esencial para el correcto funcionamiento de los circuitos cerebrales (Tremblay et al., 2016), incluido el HPCd (Yu et al., 2018). Por ejemplo, la actividad de las interneuronas SOM⁺ y PV⁺ es importante en la generación del ritmo *gamma* en el HPC (Antonoudiou et al., 2020) y las CCK⁺ se han relacionado con el ritmo *theta* (Klausberger et al., 2005). Por lo tanto, la depresión que induce la PGE₂ sobre la sinapsis inhibitoria puede ser importante en la generación o mantención de las oscilaciones neuronales, las cuales son cruciales para las funciones cognitivas que dependen del HPC (Forro et. al., 2015; Antonoudiou et. al., 2020). La PGE₂ juega un papel importante en el funcionamiento del circuito hipocampal, potencia la transmisión excitatoria (Sang et al., 2005) y deprime la inhibitoria (figura 2) en las neuronas piramidales de la región de CA1. Por otro lado, se ha descrito que la perfusión de PGE₂ en el HPCd deteriora la memoria del miedo al contexto (Hein et al., 2007). Además, en ratones KO para el receptor EP₂, se observa un deterioro de la memoria espacial (Yang et al., 2009) un proceso cognitivo relacionado principalmente al HPCd.

Nuestro trabajo sugiere que la PGE₂ es un neuromodulador importante de la sinapsis GABAérgica del HPCd, disminuye la inhibición sobre las neuronas piramidales de CA1 principalmente en el *stratum pyramidale*. La desregulación del sistema neuromodulador de PGs se ha reportado en diferentes neuropatologías, entre estas, podemos destacar el Alzheimer, Parkinson, isquemia cerebral, la esquizofrenia, depresión y el estrés (Andreasson, 2010; Bartels and Leenders, 2010; Cimino et. al., 2008; Liu et al., 2019; Furuyashiki and Narumiya, 2011; Furuyashiki et al., 2019; Leza et al., 2015; Müller, 2019; Müller et al., 2004, 2015; Nitta et al., 2013). Los déficits cognitivos que se observan en este tipo de enfermedades están relacionados a los procesos neuroinflamatorios, donde se observa un aumento de la actividad de la COX-2 y de la síntesis de PGs (Song et al., 2018; Müller and Schwarz, 2008; Hein and, O'Banion, 2009; Furuyashiki and Narumiya, 2011; Liang et. al., 2008; Lima et. al., 2012; Famitafreshi and Karimian, 2020; López and Ballaz, 2020). En experimentos con roedores sometidos a una laparotomía se observó un aumento de la expresión del receptor EP₃ en el HPC (Xiao et. al., 2018). Además, en modelos murinos de Alzheimer se ha descrito que el EP₃R disminuye la capacidad de generar plasticidad a largo plazo en el HPC (Maignret et. al., 2017) y en ratones con isquemia cerebral se ha descrito un aumento de la expresión del EP₂R en estructuras

como el HPC (Liu et. al., 2019). Los resultados de este trabajo aportan información importante para comprender los mecanismos celulares que utiliza la PGE_2 para modular la transmisión sináptica en el HPCd. De esta manera, nuestros datos son una base para futuros estudios en la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos para tratar los síntomas cognitivos, como la pérdida de memoria que se observa en diferentes neuropatologías, en la cuales se ha descrito una desregulación del sistema de PGs.

7-Conclusiones

En resumen, las conclusiones de este trabajo son:

Nuestros resultados muestran que la PGE₂ exógena deprime la transmisión sináptica GABAérgica sobre las neuronas piramidales de la región CA1 en el HPCd mediante la activación de mecanismos celulares tanto pre como post-sinápticos en diferentes sub-grupos de sinapsis inhibitorias. La depresión de la sinapsis inhibitoria depende de receptores post-sinápticos acoplados a proteínas G. El receptor EP₃ modula la transmisión GABAérgica basal y participa en la depresión de la amplitud de las corrientes inhibitorias generada por la PGE₂ exógena, lo que sugiere que las isoformas del EP₃R pueden tener una actividad tanto constitutiva como inducible. Por ejemplo, la isoforma β del receptor EP₃ que podría deprimir la amplitud de las corrientes inhibitorias a través de inhibir la vía AC-AMPC-PKA por la aplicación de PGE₂. De esta manera, la disminución de la actividad de la PKA en la post-sinapsis generaría una disminución en el número o la conductancia de los receptores ionotrópicos GABA_A. Por otro lado, la actividad constitutiva que tienen las isoformas α o γ del receptor EP₃ podrían modular la eficacia sináptica GABAérgica basal manteniendo un nivel de inhibición tónico en la sinapsis GABAérgica sobre las neuronas piramidales de CA1. Además, la PGE₂ genera una disminución en la cinética de las respuestas lo que sugiere un aumento de la tasa de desactivación o de recuperación de la desensibilización de los GABA_AR independiente del EP₃R. Sugiriendo que, posiblemente, los otros receptores para PGE₂ también estén encontrados involucrados en la modulación de la transmisión inhibitoria. A nivel pre-sináptico, los receptores para PGE₂ expresados en los terminales sinápticos o en los astrocitos podrían generar la disminución de la probabilidad de liberación de GABA o la cantidad de neurotransmisor en las vesículas sinápticas (tamaño *quanta*). Estos resultados muestran la importancia de la PGE₂ en el control de la eficacia sináptica inhibitoria del circuito hipocampal, lo que puede tener implicancias importantes en la integración de la información y con los procesos cognitivos que dependen del HPCd.

Anexo

Proyección

PGE₂ en un modelo de ratas adultas tratadas con ketamina en la adolescencia

La PGE₂ juega un papel importante en la fisiología del sistema nervioso (Chen and Bazan, 2005a, Chen et al., 2002; Khazaeipool et al., 2018; Mizutani et al., 2015; Sang et al., 2005; Yang and Chen, 2008). Nuestros resultados muestran que la PGE₂ deprime la eficacia sináptica GABAérgica sobre las neuronas piramidales de la región de CA1 mediante mecanismos tanto pre como post-sinápticos en sinapsis inhibitorias diferentes (figura 10). Se ha descrito que el sistema de PGs se encuentra desregulado en trastornos neuropsiquiátricos como la depresión, el estrés o la esquizofrenia (Song et al., 2018; Furuyashiki and Narumiya, 2011; Müller et al., 2004; Müller and Schwarz, 2008). Por ejemplo, estudios en pacientes con esquizofrenia, muestran que los niveles de PGE₂ en el plasma se encuentran aumentados (Kaiya et al., 1989), además en estudios post-mortem se observó una mayor expresión de la maquinaria enzimática que sintetiza a las PGs (Trépanier et al., 2016). Sin embargo, el efecto neuromodulador de la PGE₂, sobre la transmisión sináptica en un modelo murino de esquizofrenia se desconoce. La desregulación de la modulación de la transmisión sináptica hipocampal podría causar diferentes problemas en las funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria espacial que dependen del HPCd. Como proyección de este trabajo, realizamos algunos experimentos preliminares en un modelo de ratas adultas tipo esquizofrénicas generadas por inyecciones con ketamina (ket) en la adolescencia (p45-p51) lo que genera un deterioro en la memoria de trabajo y una disminución de la sinapsis inhibitoria en la corteza prefrontal (Pérez et al., 2019). Por otro lado, en el HPCv no se han encontrado diferencias en la eficacia sináptica inhibitoria basal. Sin embargo, la actividad neuronal del HPCd no se ha estudiado, además se desconoce si la neuromodulación de la transmisión sináptica hipocampal se encuentra funcionando normalmente. Por lo tanto, decidimos determinar si al activar de manera farmacológica los receptores para PGE₂ en rebanadas de HPCd de ratas adultas (>p60) que fueron tratadas con

ket en la adolescencia (p45-p51) se encuentra alterada, en comparación a las ratas controles tratadas con suero fisiológico (vehículo). En las neuronas piramidales de la región de CA1 del HPCd de ratas tratadas con ket y vehículo (veh), estudiamos la potenciación de la transmisión glutamatérgica generada por la PGE₂ descrita en literatura (Sang et al., 2005) y la depresión de la transmisión inhibitoria por la aplicación de PGE₂ que observamos en este trabajo (figura 2). De manera, interesante encontramos que en el grupo de ratas tratadas con ket la potenciación de la sinapsis excitatoria y la depresión de la sinapsis inhibitoria generada por la PGE₂ se encuentran disminuidas. Estos resultados son una base importante para futuros estudios que busquen posibles blancos terapéuticos para el tratamiento de los déficits cognitivos presentes en enfermedades neuropsiquiátricas como por ejemplo la esquizofrenia.

Depresión de la transmisión inhibitoria generada por la PGE₂ en un modelo de ratas tratadas con ketamina

Para evaluar si la depresión de la sinapsis inhibitoria por PGE₂ se encuentra alterada en el modelo de ratas ket, comparamos el efecto de la PGE₂ sobre las amplitudes de las eIPSCs en neuronas piramidales de CA1 del HPCd en ratas tratadas con ket y ratas tratadas con veh (figura 1 del anexo). Registramos las eIPSCs antes y después de aplicar la PGE₂ por alrededor de 1 minuto tanto en el grupo de ratas tratadas con veh como ket. En estas condiciones, en el grupo veh la PGE₂ deprime la amplitud de las eIPSCs a un $63.7 \pm 6.9\%$ (n=6, figura 1A y B anexo) no así en el grupo ket donde la amplitud en promedio alcanza un $87.1 \pm 6.2\%$ (n=6, figura 1A y B anexo). Además, la PGE₂ induce un aumento significativo en la RPP en el grupo veh (desde un 0.55 ± 0.03 en el basal y hasta un 0.81 ± 0.05 , a los 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=6, figura 1D anexo) no así en el grupo ket (desde un 0.62 ± 0.06 en el basal y hasta un 0.74 ± 0.05 , 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=6, figura 1D anexo). Estos datos indican que la depresión generada por la PGE₂ sobre la amplitud de las eIPSCs en el grupo de ratas tratadas con ket es menor que en el control.

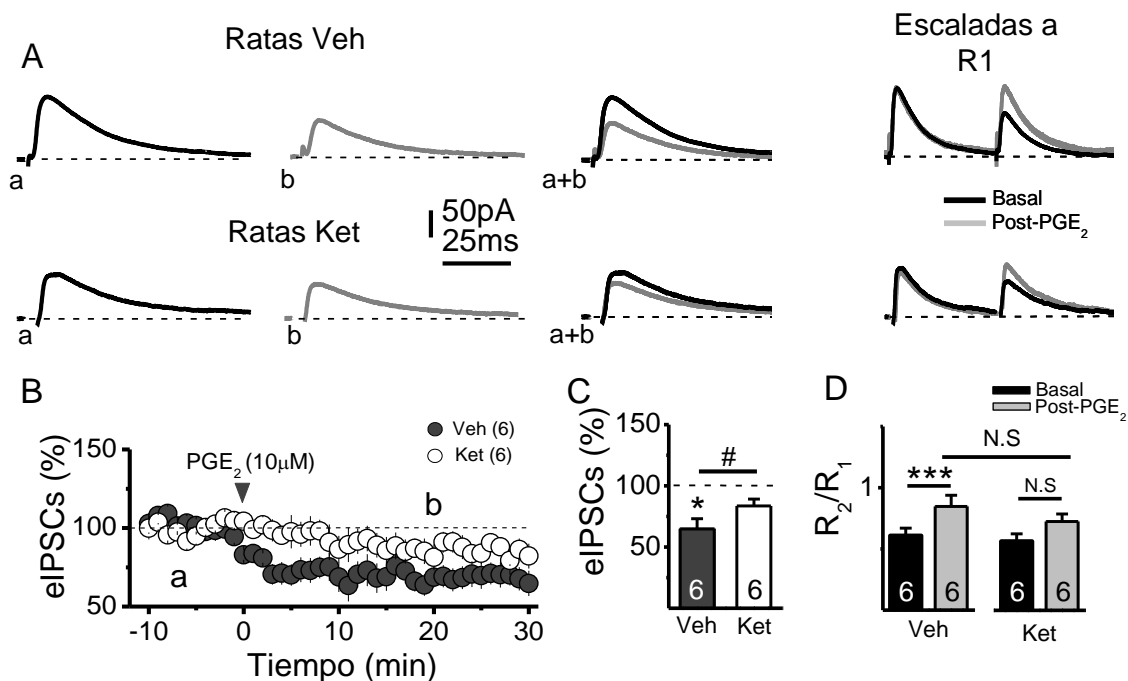


Figura 1 anexo: PGE₂ no genera una depresión significativa de la amplitud de las eIPSCs en las ratas tratadas con ket. En **A**), arriba a la izquierda, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 de ratas veh, antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Al medio**, se muestran los trazos a y b superpuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran los trazos de las eIPSCs obtenidas con el PPP pareados escaladas a la primera respuesta (R₁). **Abajo a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las eIPSCs registradas en las neuronas piramidales de CA1 de ratas ket, antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Al medio**, se muestran los trazos a y b superpuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran los trazos de las eIPSCs obtenidas con el PPP escaladas a R₁. En **B**) se muestra la amplitud de las eIPSCs normalizadas en función del tiempo, los círculos en gris oscuro muestran las eIPSCs de las ratas veh y los círculos blancos muestran las eIPSCs de las ratas ket. En **C**), se muestra el porcentaje de cambio de las eIPSCs normalizadas a la línea base 20 minutos después de aplicar la PGE₂ en el grupo veh (barra gris oscura) (SW-test p=0.86 en el basal y p=0.45 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.017) y en el grupo ket (barra blanca) (SW-test p=0.35 en el basal y p=0.37 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.096, entre ambos grupos se utilizó Anova one way test p=0.025) indicado por el símbolo numeral. En **D**), **a la izquierda**, se muestra la RPP en el grupo veh antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris claro) (SW-Test p=0.27 en el basal y p=0.56 después de 20 min de la aplicación de PGE₂, T-test pareado p=0.00025). **A la derecha**, se muestra la RPP en el grupo ket antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris claro) (SW-Test p=0.26 en el basal y p=0.77 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.11). ANOVA two way indica que la PGE₂ tiene un efecto significativo en la RPP (p=0.0039), sin diferencias entre los grupos veh y ket (p=0.62) y sin interacción entre el efecto de la PGE₂ en la RPP y los grupos veh y ket (p=0.32). En el gráfico se muestra que no hay diferencia entre el efecto de la PGE₂ en la RPP de los grupos veh y ket (p=0.31). Se utilizó post hoc Holm-sidak test para las comparaciones de los promedios. Los gráficos muestran el promedio ± SEM.

Por otro lado, para determinar si la PGE₂ disminuye la probabilidad de liberación de GABA registramos las mIPSC en el grupo de ratas tratadas con ket. Al igual que en el grupo control (figura 3) la aplicación de la PGE₂ también genera una disminución de la frecuencia de las mIPSC (0.68±0.2Hz en el basal y 0.28±0.1Hz post aplicación de la PGE₂, n=4, figura 2C anexo) sin cambios en su amplitud (20.3±5.4pA en el basal y 18.8±3.9pA, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=4, figura 2C anexo). El análisis de probabilidad acumulada del intervalo inter-evento (en ms) y de la amplitud (en pA), antes y después de aplicar la PGE₂ muestra una disminución significativa de la frecuencia, pero no de la amplitud de las mIPSC (figura 2B anexo). Estos resultados sugieren que la disminución de la probabilidad de liberación generada por la PGE₂ en la transmisión inhibitoria de ratas tratadas con ket es similar a las ratas controles (veh).

En resumen, la PGE₂ genera depresión de la eficacia sináptica GABAérgica de manera independiente del disparo de potenciales de acción en el grupo de ratas ket. Sin embargo, la depresión de amplitud y aumento de la RPP de las eIPSCs no cambian significativamente, aunque si hay una tendencia, la cual se puede explicar debido a que la regulación de la transmisión sináptica inhibitoria mediada por la PGE₂ funciona normalmente en ratas ket. El problema puede estar en el aumento o la disminución de diferentes conductancias iónicas que podría controlar la PGE₂. En el HPC se ha descrito que regula las conductancias de potasio en las neuronas piramidales de CA1 (Chen and Bazan, 2005a). Adicionalmente, la PGE₂ también activa conductancias de sodio que aumentan la excitabilidad de las neuronas del bulbo raquídeo que controlan la frecuencia respiratoria y en las neuronas del asta dorsal de la médula espinal asociadas a las vías del dolor (Koch et. al., 2015; Baba et. al., 2001). En los registros de las eIPSCs, el estímulo eléctrico genera el disparo de potenciales de acción en las fibras que se encuentran en el lugar donde se encuentra el electrodo de estimulación. Es posible que la PGE₂ tenga un efecto sobre las conductancias de las interneuronas GABAérgicas o sobre las neuronas excitatorias o inhibitorias que hacen sinapsis sobre ellas. De esta manera, el mecanismo que activa la PGE₂ para regular la excitabilidad del circuito puede estar alterado, no así el mecanismo sináptico independiente de potenciales de acción. La tendencia a la disminución que se observa en la amplitud de las eIPSCs y al aumento de la RPP

podría deberse a que es necesario que ambos mecanismos se activen para poder observar la depresión significativa de la transmisión GABAérgica en el HPCd.

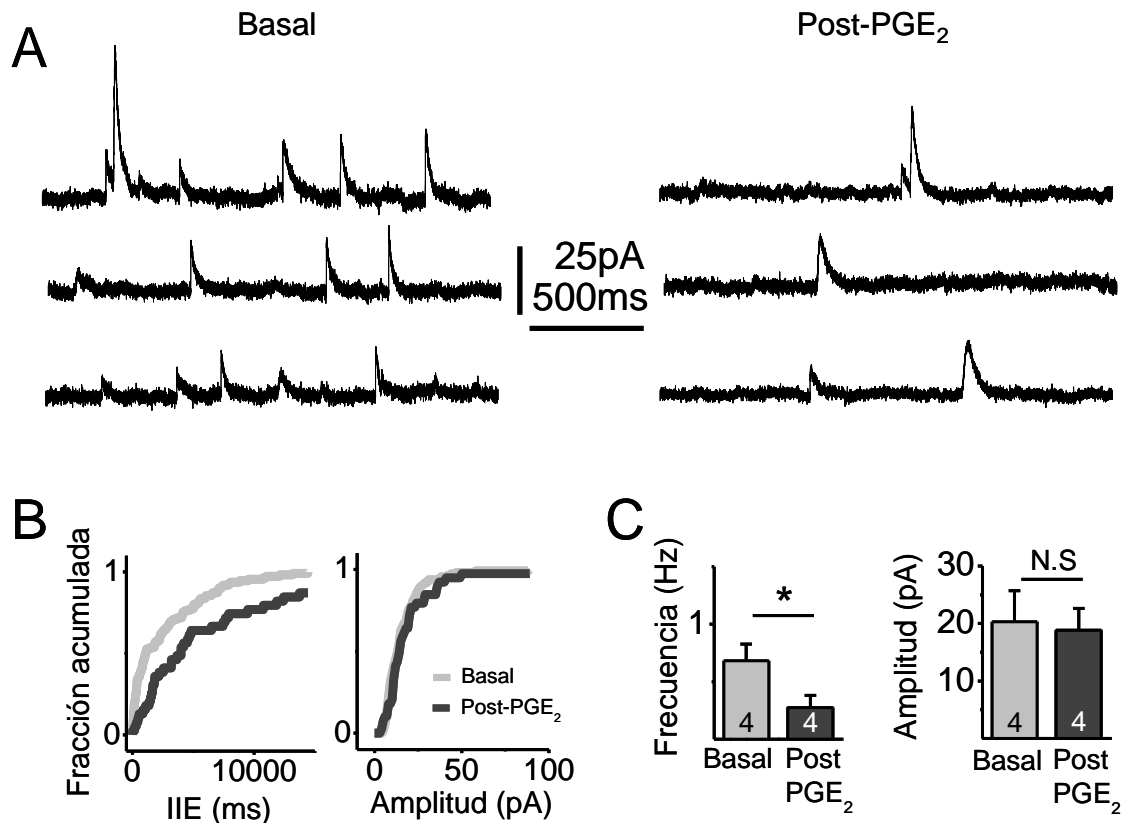


Figura 2 anexo: La PGE₂ disminuye la frecuencia las mIPSC en el grupo ket. En **A) a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las mIPSC registradas en las neuronas piramidales de CA1 de ratas ket en el basal. **A la derecha**, se muestran los trazos representativos de las mIPSC 20 minutos después de aplicar la PGE₂ En **B) a la izquierda**, se muestra la probabilidad acumulada del intervalo inter-evento (IIE) del grupo ket (KS p=0.0007). **A la derecha**, se muestra la probabilidad acumulada de amplitud del grupo ket (KS-test p=0.99). La línea gris clara indica la probabilidad acumulada en el basal y la línea gris oscura indica la probabilidad acumulada 20 minutos después de aplicar la PGE₂ en ratas ket. En **C)** se muestran los promedios de la frecuencia (a la izquierda, SW-Test p=0.88 en el basal y p=0.21 después de 20 minutos de la aplicación de la PGE₂, T-test pareado p=0.024) y de la amplitud (a la derecha, SW-test p=0.66 en el basal y p=0.88 después de 20 minutos de la aplicación de la PGE₂, T-test pareado p=0.55) antes (barras gris claro) y 20

minutos después de aplicar la PGE₂ (barras gris oscuro) en el grupo ket. Los gráficos muestran el promedio \pm SEM.

Potenciación de la transmisión excitatoria generada por PGE₂ en ratas tratadas con ket

La PGE₂ genera potenciación de la transmisión excitatoria en las neuronas piramidales de CA1 del HPCd mediante la activación del EP₂R (Sang et al 2005). Para evaluar el efecto de la PGE₂ sobre las corrientes post-sinápticas excitatorias evocadas (eEPSCs) utilizamos el potencial de reversión de las corrientes GABAérgicas (-60mV) y de esta manera aislar las eEPSCs en las neuronas piramidales de CA1 de ratas veh y ket. La PGE₂ genera una potenciación de la amplitud de las eEPSCs en las neuronas piramidales de CA1 en el grupo veh, la amplitud promedio alcanza un 166.3 \pm 27.3% del control (n=6, figura 3B anexo). Sin embargo, el efecto de la PGE₂ sobre las corrientes excitatorias en las ratas tratadas con ket, la amplitud solo alcanza un 121.7 \pm 11.9% del control (n=6, figura 3B anexo). La disminución de la RPP confirma el aumento de la probabilidad de liberación que induce la PGE₂ en la sinapsis glutamatérgica en las neuronas piramidales de CA1 del HPCd de ratas tratadas con veh (desde un 1.68 \pm 0.13 en el basal y un 1.44 \pm 0.10, a los 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=6, figura 3D anexo). Por otro lado, en el grupo de ratas tratadas con ket, la RPP no aumenta significativamente por la aplicación de PGE₂ (desde un 1.39 \pm 0.05 en el basal y un 1.43 \pm 0.09, a los 20 minutos después de aplicar la PGE₂, n=6, figura 3D anexo). La RPP basal en el grupo de células registradas en HPCd de ratas ket es menor que en el grupo veh, lo que sugiere que en la probabilidad de liberación se encuentra aumentada en el grupo ket. Adicionalmente, la disminución de la RPP generada por la PGE₂ se observa en el grupo veh, no así en ratas ket. Nuestros resultados sugieren que la potenciación de la transmisión excitatoria inducida por la PGE₂ se encuentra alterada en el modelo de ratas ket. Sin embargo, se necesitan futuros experimentos para determinar el efecto del tratamiento con ket en la plasticidad sináptica glutamatérgica mediada por PGE₂.

En conjunto, estos resultados muestran el importante papel que juega la PGE₂ sobre el control de la eficacia sináptica en el HPCd, posiblemente, a través de diferentes mecanismos que podrían participar del procesamiento de la información. Adicionalmente, mostramos que la capacidad

de la PGE₂ generar cambios en la eficacia sináptica inhibitoria y excitatoria se encuentra deteriorada en un modelo de ratas ket. Este modelo murino, es aceptado por reproducir algunos síntomas cognitivos de la esquizofrenia (Pérez et al., 2019). Nuestros datos, aportan bases importantes para futuras investigaciones que busquen dilucidar los mecanismos celulares de la PGE₂ tanto en la fisiología como fisiopatología del SN. Es posible que uno o más de los mecanismos activados por la PGE₂ que modulan la eficacia sináptica excitatoria e inhibitoria se encuentran alterados en el modelo de ratas tipo esquizofrénicas (ratas ket). Lo que sugeriría que en el modelo ocurren alteraciones en el sistema de PGs deteriorando la capacidad de generar cambios en la eficacia sináptica en respuesta a la aplicación de PGE₂ exógena.

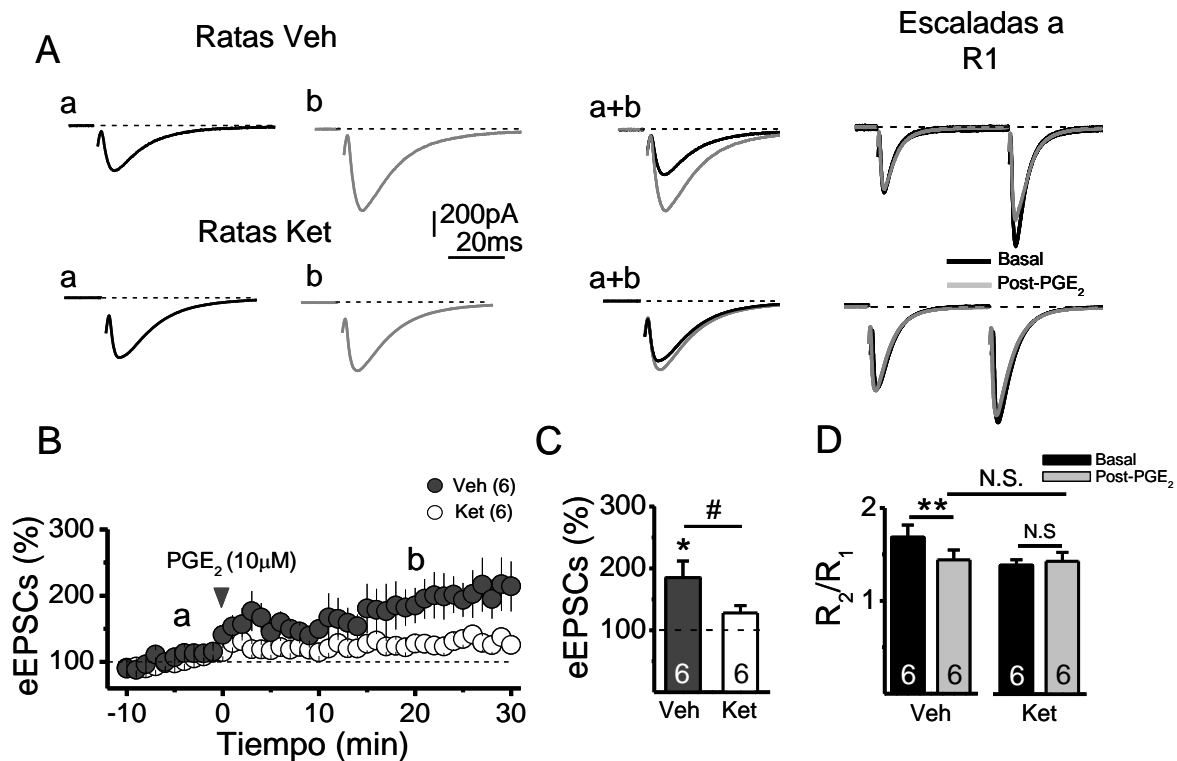


Figura 3 anexo: Potenciación de la transmisión excitatoria generada por PGE₂ en ratas tratadas con veh y ket. En **A**), arriba a la izquierda, se muestran los trazos representativos de las eEPSC registradas en las neuronas piramidales de CA1 de ratas veh, antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran las respuestas obtenidas con el PPP escaladas a R₁. **Abajo a la izquierda**, se muestran los trazos representativos de las eEPSC registradas en las neuronas piramidales de CA1 de ratas ket, antes (a, trazo negro) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (b, trazo gris). **Al medio**, se muestran los trazos a y b sobrepuestos (a+b). **A la derecha**, se muestran las respuestas obtenidas con el PPP escaladas a R₁. En **B**) se muestra la amplitud de las eEPSC normalizadas en función del tiempo, los círculos en gris oscuro muestran las eEPSC de las ratas veh y los círculos blancos muestran las eEPSC de las ratas ket. En **C**), se muestra el porcentaje de cambio de las eEPSC a 20 minutos después de aplicar la PGE₂ en el grupo veh (barra gris oscura) (SW-Test p=0.74 en el basal y p=0.059, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.014) y en el grupo ket (barra blanca) (SW-test p=0.75 en el basal y p=0.61, 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.075), Anova one way para comparar ambos grupos (p=0.058) indicado por el símbolo numeral. En **D**), **a la izquierda**, se muestra la RPP en el grupo veh antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris claro) (SW-test p=0.21 en el basal y p=0.26 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.0018). **A la derecha**, se muestra la RPP en el grupo ket antes (barra negra) y 20 minutos después de aplicar la PGE₂ (barra gris claro) (SW-Test p=0.84 en el basal y p=0.51 20 minutos después de aplicar la PGE₂, T-test pareado p=0.32). ANOVA two way indica que la PGE₂ no tiene un efecto significativo en la RPP (p=0.37), sin diferencias entre los grupos veh y ket (p=0.082) y sin interacción entre el efecto de la PGE₂ en la RPP y los grupos veh y ket (p=0.13). En el grafico se muestra que no hay diferencia entre el efecto de la PGE₂ en la RPP de los grupos veh y ket (p=0.84). Se utilizó post hoc Holm-sidak test para las comparaciones de los promedios. Los gráficos muestran el promedio ± SEM.

Referencias

- Abraham WC, Jones OD, Glanzman DL. Is plasticity of synapses the mechanism of long-term memory storage? *NPJ Sci Learn.* 2019 Jul 2;4:9. doi: 10.1038/s41539-019-0048-y. PMID: 31285847; PMCID: PMC6606636.
- Ahumada, J., Fernández de Sevilla, D., Couve, A., Buño, W., and Fuenzalida, M. (2013). Long-term depression of inhibitory synaptic transmission induced by spike-timing dependent plasticity requires coactivation of endocannabinoid and muscarinic receptors. *Hippocampus* 23, 1439–1452.
- Aika, Y., Ren, J.Q., Kosaka, K., and Kosaka, T. (1994). Quantitative analysis of GABA-like-immunoreactive and parvalbumin-containing neurons in the CA1 region of the rat hippocampus using a stereological method, the disector. *Exp. Brain Res.* 99, 267–276.
- Akaneya, Y. (2008). The Remarkable Mechanism of Prostaglandin E2 on Synaptic Plasticity. *Gene Regul. Syst. Biol.* 1, 83–89.
- Akaneya Y, Tsumoto T. Bidirectional trafficking of prostaglandin E2 receptors involved in long-term potentiation in visual cortex. *J Neurosci.* 2006 Oct 4;26(40):10209-21. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3028-06.2006. PMID: 17021176; PMCID: PMC6674642.
- Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., O'Keefe, J., Bliss, D. of N.T., and Bliss, T. (2007). *The Hippocampus Book* (Oxford University Press, USA).
- Andreasson K. Emerging roles of PGE2 receptors in models of neurological disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2010 Apr;91(3-4):104-12. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2009.04.003.
- Anis, N.A., Berry, S.C., Burton, N.R., and Lodge, D. (1983). The dissociative anaesthetics, ketamine and phencyclidine, selectively reduce excitation of central mammalian neurones by N-methyl-aspartate. *Br. J. Pharmacol.* 79, 565–575.
- Antonoudiou P, Tan YL, Kontou G, Upton AL, Mann EO. Parvalbumin and Somatostatin Interneurons Contribute to the Generation of Hippocampal Gamma Oscillations. *J Neurosci.* 2020 Sep 30;40(40):7668-7687. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0261-20.2020. Epub 2020 Aug 28. PMID: 32859716; PMCID: PMC7531548.
- Amaral DG, Dolorfo C, Alvarez-Royo P. Organization of CA1 projections to the subiculum: a PHA-L analysis in the rat. *Hippocampus.* 1991 Oct;1(4):415-35. doi: 10.1002/hipo.450010410. PMID: 1727001.
- Avery, M.C., and Krichmar, J.L. (2017). *Neuromodulatory Systems and Their Interactions: A Review of Models, Theories, and Experiments.* *Front. Neural Circuits* 11.
- Baba H, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Direct activation of rat spinal dorsal horn neurons by prostaglandin E2. *J Neurosci.* 2001 Mar 1;21(5):1750-6. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-05-01750.2001. PMID: 11222664; PMCID: PMC6762949.
- Babiec WE, Jami SA, Guglietta R, Chen PB, O'Dell TJ. Differential Regulation of NMDA Receptor-Mediated Transmission by SK Channels Underlies Dorsal-Ventral Differences in Dynamics of

Schaffer Collateral Synaptic Function. *J Neurosci.* 2017 Feb 15;37(7):1950-1964. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3196-16.2017. Epub 2017 Jan 16. PMID: 28093473; PMCID: PMC5320620. Bartels AL, Leenders KL. Cyclooxygenase and neuroinflammation in Parkinson's disease neurodegeneration. *Curr Neuropharmacol.* 2010 Mar;8(1):62-8. doi: 10.2174/157015910790909485. PMID: 20808546; PMCID: PMC2866462.

Baude, A., Bleasdale, C., Dalezios, Y., Somogyi, P., and Klausberger, T. (2007). Immunoreactivity for the GABAA receptor alpha1 subunit, somatostatin and Connexin36 distinguishes axoaxonic, basket, and bistratified interneurons of the rat hippocampus. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 17, 2094–2107.

Bekkers, J.M., and Stevens, C.F. (1990). Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 346, 724–729.

Bertin, J., Barat, C., Méthot, S., and Tremblay, M.J. (2012). Interactions between prostaglandins, leukotrienes and HIV-1: Possible implications for the central nervous system. *Retrovirology* 9, 4.

Bettler, B., Kaupmann, K., Mosbacher, J., and Gassmann, M. (2004). Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiol. Rev.* 84, 835–867.

Bezaire, M.J., and Soltesz, I. (2013). Quantitative assessment of CA1 local circuits: knowledge base for interneuron-pyramidal cell connectivity. *Hippocampus* 23, 751–785.

Bezzi P, Carmignoto G, Pasti L, Vesce S, Rossi D, Rizzini BL, Pozzan T, Volterra A. Prostaglandins stimulate calcium-dependent glutamate release in astrocytes. *Nature.* 1998 Jan 15;391(6664):281-5. doi: 10.1038/34651. PMID: 9440691.

Booker, S.A., and Vida, I. (2018). Morphological diversity and connectivity of hippocampal interneurons. *Cell Tissue Res.* 373, 619–641.

Borgland, S.L., Connor, M., Ryan, R.M., Ball, H.J., and Christie, M.J. (2002). Prostaglandin E2 inhibits calcium current in two sub-populations of acutely isolated mouse trigeminal sensory neurons. *J. Physiol.* 539, 433–444.

Bowery, N.G., and Smart, T.G. (2009). GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history: GABA and glycine as neurotransmitters. *Br. J. Pharmacol.* 147, S109–S119.

Braak, H., Braak, E., Yilmazer, D., and Bohl, J. (1996). Functional anatomy of human hippocampal formation and related structures. *J. Child Neurol.* 11, 265–275.

Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE. Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Oct 5;101(40):14515-20. doi: 10.1073/pnas.0406344101. Epub 2004 Sep 27. PMID: 15452348; PMCID: PMC521976.

del Castillo, J., and Katz, B. (1954). Quantal components of the end-plate potential. *J. Physiol.* 124, 560–573.

Cea-del Rio, C.A., Lawrence, J.J., Erdelyi, F., Szabo, G., and McBain, C.J. (2011). Cholinergic modulation amplifies the intrinsic oscillatory properties of CA1 hippocampal cholecystinin-positive interneurons. *J. Physiol.* 589, 609–627.

Cenquizca LA, Swanson LW. Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Res Rev.* 2007 Nov;56(1):1-26. doi: 10.1016/j.brainresrev.2007.05.002. Epub 2007 May 10. PMID: 17559940; PMCID: PMC2171036.

- Cimino PJ, Keene CD, Breyer RM, Montine KS, Montine TJ. Therapeutic targets in prostaglandin E2 signaling for neurologic disease. *Curr Med Chem.* 2008 ;15(19):1863-9. doi: 10.2174/092986708785132915. PMID: 18691044; PMCID: PMC2693919.
- Chen, C., and Bazan, N.G. (2005a). Endogenous PGE2 Regulates Membrane Excitability and Synaptic Transmission in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *J. Neurophysiol.* 93, 929–941.
- Chen, C., and Bazan, N.G. (2005b). Lipid signaling: sleep, synaptic plasticity, and neuroprotection. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 77, 65–76.
- Chen, C., Magee, J.C., and Bazan, N.G. (2002). Cyclooxygenase-2 Regulates Prostaglandin E2 Signaling in Hippocampal Long-Term Synaptic Plasticity. *J. Neurophysiol.* 87, 2851–2857.
- Chen, H., Hu, B., Lv, X., Zhu, S., Zhen, G., Wan, M., Jain, A., Gao, B., Chai, Y., Yang, M., et al. (2019). Prostaglandin E2 mediates sensory nerve regulation of bone homeostasis. *Nat. Commun.* 10, 181.
- Cherubini, E., Gaiarsa, J.L., and Ben-Ari, Y. (1991). GABA: an excitatory transmitter in early postnatal life. *Trends Neurosci.* 14, 515–519.
- Chevalleyre, V., and Castillo, P.E. (2004). Endocannabinoid-Mediated Metaplasticity in the Hippocampus. *Neuron* 43, 871–881.
- Chevalleyre, V., and Piskorowski, R. (2014). Modulating excitation through plasticity at inhibitory synapses. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 93.
- Chevalleyre, V., Heifets, B.D., Kaeser, P.S., Südhof, T.C., and Castillo, P.E. (2007). Endocannabinoid-Mediated Long-Term Plasticity Requires cAMP/PKA Signaling and RIM1 α . *Neuron* 54, 801–812.
- Chiba T. Collateral projection from the amygdalo--hippocampal transition area and CA1 to the hypothalamus and medial prefrontal cortex in the rat. *Neurosci Res.* 2000 Dec;38(4):373-83. doi: 10.1016/s0168-0102(00)00183-8. PMID: 11164564.
- Chittajallu, R., Craig, M.T., McFarland, A., Yuan, X., Gerfen, S., Tricoire, L., Erkkila, B., Barron, S.C., Lopez, C.M., Liang, B.J., et al. (2013). Dual origins of functionally distinct O-LM interneurons revealed by differential 5-HT(3A)R expression. *Nat. Neurosci.* 16, 1598–1607.
- Chiu, C.Q., Puente, N., Grandes, P., and Castillo, P.E. (2010). Dopaminergic Modulation of Endocannabinoid-Mediated Plasticity at GABAergic Synapses in the Prefrontal Cortex. *J. Neurosci.* 30, 7236–7248.
- Claar, D., Hartert, T.V., and Peebles, R.S. (2015). The Role of Prostaglandins in Allergic Lung Inflammation and Asthma. *Expert Rev. Respir. Med.* 9, 55–72.
- Cobb, S.R., Buhl, E.H., Halasy, K., Paulsen, O., and Somogyi, P. (1995). Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* 378, 75–78.
- Colina-Chourio, J., Godoy-Godoy, N., and Avila-Hernández, R. (2000). Role of prostaglandins in hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 14, S16–S19.
- Connelly, W.M., Errington, A.C., Giovanni, G.D., and Crunelli, V. (2013). Metabotropic regulation of extrasynaptic GABAA receptors. *Front. Neural Circuits* 7.

Cope, D.W., Maccaferri, G., Márton, L.F., Roberts, J.D.B., Cobden, P.M., and Somogyi, P. (2002). Cholecystokinin-immunopositive basket and Schaffer collateral-associated interneurons target different domains of pyramidal cells in the CA1 area of the rat hippocampus. *Neuroscience* 109, 63–80.

Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem J.* 2000 Oct 1;351(Pt 1):95-105. doi: 10.1042/0264-6021:3510095. PMID: 10998351; PMCID: PMC1221339.

Dawe GB, Musgaard M, Andrews ED, Daniels BA, Aourousseau MR, Biggin PC, Bowie D. Defining the structural relationship between kainate-receptor deactivation and desensitization. *Nat Struct Mol Biol.* 2013 Sep;20(9):1054-61. doi: 10.1038/nsmb.2654. Epub 2013 Aug 18. PMID: 23955023; PMCID: PMC4972573.

Deng X, Gu L, Sui N, Guo J, Liang J. Parvalbumin interneuron in the ventral hippocampus functions as a discriminator in social memory. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 Aug 13;116(33):16583-16592. doi: 10.1073/pnas.1819133116. Epub 2019 Jul 29. PMID: 31358646; PMCID: PMC6697894. Dey, I., Lejeune, M., and Chadee, K. (2006). Prostaglandin E2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract. *Br. J. Pharmacol.* 149, 611–623.

Dong, H.-W., Swanson, L.W., Chen, L., Fanselow, M.S., and Toga, A.W. (2009). Genomic–anatomic evidence for distinct functional domains in hippocampal field CA1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 11794–11799.

Drake, C.T., and Milner, T.A. (2002). Mu opioid receptors are in discrete hippocampal interneuron subpopulations. *Hippocampus* 12, 119–136.

Eichenbaum, H., Schoenbaum, G., Young, B., and Bunsey, M. (1996). Functional organization of the hippocampal memory system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 13500–13507.

Eichenbaum, H., Yonelinas, A.P., and Ranganath, C. (2007). The Medial Temporal Lobe and Recognition Memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 30, 123–152.

Famitafreshi H, Karimian M. Prostaglandins as the Agents That Modulate the Course of Brain Disorders. *Degener Neurol Neuromuscul Dis.* 2020 Jan 16;10:1-13. doi: 10.2147/DNND.S240800. PMID: 32021549; PMCID: PMC6970614.

Fanselow, M.S., and Dong, H.-W. (2010). Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7.

Fasano, C., Rocchetti, J., Pietrajtis, K., Zander, J.-F., Manseau, F., Sakae, D.Y., Marcus-Sells, M., Ramet, L., Morel, L.J., Carrel, D., et al. (2017). Regulation of the Hippocampal Network by VGLUT3-Positive CCK- GABAergic Basket Cells. *Front. Cell. Neurosci.* 11.

Fernández de Sevilla, D., Núñez, A., Borde, M., Malinow, R., and Buño, W. (2008). Cholinergic-mediated IP3-receptor activation induces long-lasting synaptic enhancement in CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 1469–1478.

Floriou-Servou, A., von Ziegler, L., Stalder, L., Sturman, O., Privitera, M., Rassi, A., et al. (2018). Distinct proteomic, transcriptomic, and epigenetic stress responses in dorsal and ventral hippocampus. *Biol. Psychiatry* 84, 531–541. doi: 10.1016/j.biopsych.2018.02.003

Forro, T., Valenti, O., Lasztoczi, B., and Klausberger, T. (2015). Temporal organization of GABAergic interneurons in the intermediate CA1 hippocampus during network oscillations. *Cereb. Cortex N. Y.* N 1991 25, 1228–1240.

Forsythe, I.D., and Clements, J.D. (1990). Presynaptic glutamate receptors depress excitatory monosynaptic transmission between mouse hippocampal neurones. *J. Physiol.* 429, 1–16.

Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ. The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science.* 2004 May 7;304(5672):881-3. doi: 10.1126/science.1094804. PMID: 15131309.

Freund, T.F. (2003). Interneuron Diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci.* 26, 489–495.

Fuenzalida, M., Fernandez de Sevilla, D., and Buño, W. (2007). Changes of the EPSP waveform regulate the temporal window for spike-timing-dependent plasticity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 11940–11948.

Fujioka H, Funabashi T, Akema T. Prostaglandin E2 modulates presynaptic regulation of GnRH neurons via EP4 receptors in accordance with estrogen milieu. *Neuroscience.* 2017 Sep 30;360:139-145. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.07.025. Epub 2017 Jul 21. PMID: 28736136.

Fukudome, Y., Ohno-Shosaku, T., Matsui, M., Omori, Y., Fukaya, M., Tsubokawa, H., Taketo, M.M., Watanabe, M., Manabe, T., and Kano, M. (2004). Two distinct classes of muscarinic action on hippocampal inhibitory synapses: M2-mediated direct suppression and M1/M3-mediated indirect suppression through endocannabinoid signalling. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2682–2692.

Furuyashiki, T., and Narumiya, S. (2011). Stress responses: the contribution of prostaglandin E 2 and its receptors. *Nat. Rev. Endocrinol.* 7, 163–175.

Furuyashiki, T., Akiyama, S., and Kitaoka, S. (2019). Roles of multiple lipid mediators in stress and depression. *Int. Immunol.* 31, 579–587.

Glickfeld, L.L., Atallah, B.V., and Scanziani, M. (2008). Complementary modulation of somatic inhibition by opioids and cannabinoids. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 1824–1832.

Gomez I, Foudi N, Longrois D, Norel X: The role of prostaglandin e2 in human vascular inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;89:55-63.

Guzman SJ, Jonas P. Beyond TARPs: the growing list of auxiliary AMPAR subunits. *Neuron.* 2010 Apr 15;66(1):8-10. doi: 10.1016/j.neuron.2010.04.003. PMID: 20399724

Groc, L., Gustafsson, B., and Hanse, E. (2003). Early establishment of multiple release site connectivity between interneurons and pyramidal neurons in the developing hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 17, 1873–1880.

Hasegawa H, Negishi M, Ichikawa A. Two isoforms of the prostaglandin E receptor EP3 subtype different in agonist-independent constitutive activity. *J Biol Chem.* 1996 Jan 26;271(4):1857-60. doi: 10.1074/jbc.271.4.1857. PMID: 8567630.

Heifets, B.D., Chevaleyre, V., and Castillo, P.E. (2008). Interneuron activity controls endocannabinoid-mediated presynaptic plasticity through calcineurin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 10250–10255.

Hein, A.M., Stutzman, D.L., Bland, S.T., Barrientos, R.M., Watkins, L.R., Rudy, J.W., and Maier, S.F. (2007). Prostaglandins are necessary and sufficient to induce contextual fear learning impairments after interleukin-1 beta injections into the dorsal hippocampus. *Neuroscience* 150, 754–763. mediated presynaptic plasticity through calcineurin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 10250–10255.

Hilscher MM, Nogueira I, Mikulovic S, Kullander K, Leão RN, Leão KE. Chrna2-OLM interneurons display different membrane properties and h-current magnitude depending on dorsoventral location. *Hippocampus*. 2019 Dec;29(12):1224-1237. doi: 10.1002/hipo.23134. Epub 2019 Jul 13. PMID: 31301163. Hohjoh H, Inazumi T, Tsuchiya S, Sugimoto Y: Prostanoid receptors and acute inflammation in skin. *Biochimie* 2014;107:78-81.

Hoover WB, Vertes RP. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct.* 2007 Sep;212(2):149-79. doi: 10.1007/s00429-007-0150-4. Epub 2007 Jul 27. PMID: 17717690.

Hsia, A.Y., Malenka, R.C., and Nicoll, R.A. (1998). Development of excitatory circuitry in the hippocampus. *J. Neurophysiol.* 79, 2013–2024.

Huang ZL, Sato Y, Mochizuki T, Okada T, Qu WM, Yamatodani A, Urade Y, Hayaishi O: Prostaglandin e2 activates the histaminergic system via the ep4 receptor to induce wakefulness in rats. *J Neurosci* 2003;23:5975-5983

Hu, H., Gan, J., and Jonas, P. (2014). Interneurons. Fast-spiking, parvalbumin⁺ GABAergic interneurons: from cellular design to microcircuit function. *Science* 345, 1255263.

Hu, W., MacDonald, M.L., Elswick, D.E., and Sweet, R.A. (2015). The glutamate hypothesis of schizophrenia: evidence from human brain tissue studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1338, 38–57.

Ishizuka N. Laminar organization of the pyramidal cell layer of the subiculum in the rat. *J Comp Neurol.* 2001 Jun 18;435(1):89-110. doi: 10.1002/cne.1195. PMID: 11370013.

Jin, J., Mao, G.F., and Ashby, B. (1997). Constitutive activity of human prostaglandin E receptor EP3 isoforms. *Br. J. Pharmacol.* 121, 317–323.

Jinno, S., and Kosaka, T. (2006). Cellular architecture of the mouse hippocampus: a quantitative aspect of chemically defined GABAergic neurons with stereology. *Neurosci. Res.* 56, 229–245.

Jones MW, Wilson MA. Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biol.* 2005 Dec;3(12):e402. doi: 10.1371/journal.pbio.0030402. Epub 2005 Nov 15. PMID: 16279838; PMCID: PMC1283536.

Kaar, S.J., Angelescu, I., Marques, T.R., and Howes, O.D. (2019). Pre-frontal parvalbumin interneurons in schizophrenia: a meta-analysis of post-mortem studies. *J. Neural Transm.* 126, 1637–1651.

Kaiya, H., Uematsu, M., Ofuji, M., Nishida, A., Takeuchi, K., Nozaki, M., and Idaka, E. (1989). Elevated plasma prostaglandin E2 levels in schizophrenia. *J. Neural Transm.* 77, 39–46.

Katona, I., Sperlág, B., Sík, A., Káfalvi, A., Vizi, E.S., Mackie, K., and Freund, T.F. (1999). Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 19, 4544–4558.

Katona, L., Lapray, D., Viney, T.J., Oulhaj, A., Borhegyi, Z., Micklem, B.R., Klausberger, T., and Somogyi, P. (2014). Sleep and Movement Differentiates Actions of Two Types of Somatostatin-Expressing GABAergic Interneuron in Rat Hippocampus. *Neuron* 82, 872–886.

Khazaeipool, Z., Wiederman, M., and Inoue, W. (2018). Prostaglandin E2 depresses GABA release onto parvocellular neuroendocrine neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus via presynaptic receptors. *J. Neuroendocrinol.* 30, e12638.

Kim, G.-H. (2008). Renal Effects of Prostaglandins and Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Electrolyte Blood Press.* 6, 35.

Kinney, J.W., Davis, C.N., Tabarean, I., Conti, B., Bartfai, T., and Behrens, M.M. (2006). A specific role for NR2A-containing NMDA receptors in the maintenance of parvalbumin and GAD67 immunoreactivity in cultured interneurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 1604–1615.

Kishi T, Tsumori T, Ono K, Yokota S, Ishino H, Yasui Y. Topographical organization of projections from the subiculum to the hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol.* 2000 Apr 3;419(2):205-22. doi: 10.1002/(sici)1096-9861(20000403)419:2<205::aid-cne5>3.0.co;2-0. PMID: 10722999.

Kirischuk S, Clements JD, Grantyn R. Presynaptic and postsynaptic mechanisms underlie paired pulse depression at single GABAergic boutons in rat collicular cultures. *J Physiol.* 2002 Aug 15;543(Pt 1):99-116. doi: 10.1113/jphysiol.2002.021576. PMID: 12181284; PMCID: PMC2290498.

Klausberger, T., and Somogyi, P. (2008). Neuronal Diversity and Temporal Dynamics: The Unity of Hippocampal Circuit Operations. *Science* 321, 53–57.

Klausberger, T., Roberts, J.D.B., and Somogyi, P. (2002). Cell Type- and Input-Specific Differences in the Number and Subtypes of Synaptic GABA_A Receptors in the Hippocampus. *J. Neurosci.* 22, 2513–2521.

Klausberger, T., Magill, P.J., Márton, L.F., Roberts, J.D.B., Cobden, P.M., Buzsáki, G., and Somogyi, P. (2003). Brain-state- and cell-type-specific firing of hippocampal interneurons in vivo. *Nature* 421, 844–848.

Klausberger T, Marton LF, O'Neill J, Huck JH, Dalezios Y, Fuentealba P, Suen WY, Papp E, Kaneko T, Watanabe M, Csicsvari J, Somogyi P. Complementary roles of cholecystokinin- and parvalbumin-expressing GABAergic neurons in hippocampal network oscillations. *J Neurosci.* 2005 Oct 19;25(42):9782-93. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3269-05.2005. PMID: 16237182; PMCID: PMC6725722.

Knowles, W.D. (1992). Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *J. Clin. Neurophysiol. Off. Publ. Am. Electroencephalogr. Soc.* 9, 252–263.

Koch H, Caughie C, Elsen FP, Doi A, Garcia AJ 3rd, Zanella S, Ramirez JM. (2015) Prostaglandin E2 differentially modulates the central control of eupnoea, sighs and gasping in mice. *J Physiol.* Jan 1;593(1):305-19. doi: 10.1113/jphysiol.2014.279794.

Koch, H., Huh, S.E., Elsen, F.P., Carroll, M.S., Hodge, R.D., Bedogni, F., Turner, M.S., Hevner, R.F., and Ramirez, J.M. (2010). Prostaglandin E2-induced synaptic plasticity in neocortical networks of organotypic slice cultures. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 11678–11687.

Kouvaros S, Papatheodoropoulos C. (2016a) Theta burst stimulation-induced LTP: Differences and similarities between the dorsal and ventral CA1 hippocampal synapses. *Hippocampus.* Dec;26(12):1542-1559. doi: 10.1002/hipo.22655. Epub 2016 Oct 3. PMID: 27650481.

Kouvaros S, Papatheodoropoulos C. . (2016b) Major dorso ventral differences in the modulation of the local CA1 hippocampal network by NMDA, mGlu5, adenosine A2A and cannabinoid CB1 receptors. *Neuroscience* Mar 11;317:47-64. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.12.059. Epub 2016 Jan 5. PMID: 26762803.

Laaris, N., and Weinreich, D. (2007). Prostaglandin E2 depresses solitary tract-mediated synaptic transmission in the nucleus tractus solitarius. *Neuroscience* 146, 792–801.

Lacroix, A., Toussay, X., Anenberg, E., Lecrux, C., Ferreirós, N., Karagiannis, A., Plaisier, F., Chausson, P., Jarlier, F., Burgess, S.A., et al. (2015). COX-2-Derived Prostaglandin E2 Produced by Pyramidal Neurons Contributes to Neurovascular Coupling in the Rodent Cerebral Cortex. *J. Neurosci.* 35, 11791–11810.

Lavenex PB, Amaral DG, Lavenex P. Hippocampal lesion prevents spatial relational learning in adult macaque monkeys. *J Neurosci.* 2006 Apr 26;26(17):4546-58. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5412-05.2006. PMID: 16641234; PMCID: PMC6674053.

Lee I, Kesner RP. Differential roles of dorsal hippocampal subregions in spatial working memory with short versus intermediate delay. *Behav Neurosci.* 2003 Oct;117(5):1044-53. doi: 10.1037/0735-7044.117.5.1044. PMID: 14570553.

Levine AS, Morley JE: The effect of prostaglandins (pge2 and pgf2 alpha) on food intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1981;15:735-738.

Leza, J.C., García-Bueno, B., Bioque, M., Arango, C., Parellada, M., Do, K., O'Donnell, P., and Bernardo, M. (2015). Inflammation in schizophrenia: A question of balance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 55, 612–626.

Li Y, Li L, Wu J, Zhu Z, Feng X, Qin L, Zhu Y, Sun L, Liu Y, Qiu Z, Duan S, Yu YQ. Activation of astrocytes in hippocampus decreases fear memory through adenosine A1 receptors. *Elife.* 2020 Sep 1;9:e57155. doi: 10.7554/eLife.57155. PMID: 32869747; PMCID: PMC7505657.

Liang X, Wang Q, Shi J, Lokteva L, Breyer RM, Montine TJ, Andreasson K. The prostaglandin E2 EP2 receptor accelerates disease progression and inflammation in a model of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 2008 Sep;64(3):304-14. doi: 10.1002/ana.21437. PMID: 18825663; PMCID: PMC2766522.

Liang X, Wu L, Wang Q, Hand T, Bilak M, McCullough L, Andreasson K. Function of COX-2 and prostaglandins in neurological disease. *J Mol Neurosci.* 2007 Sep;33(1):94-9. doi: 10.1007/s12031-007-0058-8. PMID: 17901552.

Li J, Serafin E, Baccei ML. Prostaglandin Signaling Governs Spike Timing-Dependent Plasticity at Sensory Synapses onto Mouse Spinal Projection Neurons. *J Neurosci.* 2018 Jul 25;38(30):6628-6639. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2152-17.2018. Epub 2018 Jun 22. PMID: 29934349; PMCID: PMC6067080.

Lima IV, Bastos LF, Limborço-Filho M, Fiebich BL, de Oliveira AC. Role of prostaglandins in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *Mediators Inflamm.* 2012 ;2012:946813. doi: 10.1155/2012/946813. Epub 2012 Jun 18. PMID: 22778499; PMCID: PMC3385693.

Liu Q, Liang X, Wang Q, Wilson EN, Lam R, Wang J, Kong W, Tsai C, Pan T, Larkin PB, Shamloo M, Andreasson KI. PGE2 signaling via the neuronal EP2 receptor increases injury in a model of cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 May 14;116(20):10019-10024. doi: 10.1073/pnas.1818544116. Epub 2019 Apr 29. PMID: 31036664; PMCID: PMC6525498.

Liu, X., and Carter, A.G. (2018). Ventral Hippocampal Inputs Preferentially Drive Corticocortical Neurons in the Infralimbic Prefrontal Cortex. *J. Neurosci.* 38, 7351–7363.

Lochner A, Moolman JA. The many faces of H89: a review. *Cardiovasc Drug Rev.* 2006 Fall-Winter;24(3-4):261-74. doi: 10.1111/j.1527-3466.2006.00261.x. PMID: 17214602.

Lodge, D.J., Behrens, M.M., and Grace, A.A. (2009). A Loss of Parvalbumin-Containing Interneurons Is Associated with Diminished Oscillatory Activity in an Animal Model of Schizophrenia. *J. Neurosci.* 29, 2344–2354.

Lu, J., Xing, J., and Li, J. (2007). Prostaglandin E2 (PGE2) inhibits glutamatergic synaptic transmission in dorsolateral periaqueductal gray (dl-PAG). *Brain Res.* 1162, 38–47.

MacDonald, J.F., Miljkovic, Z., and Pennefather, P. (1987). Use-dependent block of excitatory amino acid currents in cultured neurons by ketamine. *J. Neurophysiol.* 58, 251–266.

MacDonald, J.F., Bartlett, M.C., Mody, I., Pahapill, P., Reynolds, J.N., Salter, M.W., Schneiderman, J.H., and Pennefather, P.S. (1991). Actions of ketamine, phencyclidine and MK-801 on NMDA receptor currents in cultured mouse hippocampal neurones. *J. Physiol.* 432, 483–508.

Maggio N, Segal M. Differential corticosteroid modulation of inhibitory synaptic currents in the dorsal and ventral hippocampus. *J Neurosci.* 2009 Mar 4;29(9):2857-66. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4399-08.2009. PMID: 19261881; PMCID: PMC6666228. Malinow, R., and Tsien, R.W. (1990). Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices. *Nature* 346, 177–180.

Maingret V, Barthet G, Deforges S, Jiang N, Mulle C, Amédée T. PGE2-EP3 signaling pathway impairs hippocampal presynaptic long-term plasticity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2017 Feb;50:13-24. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.10.012. Epub 2016 Oct 17. PMID: 27837675.

Malik R, Dougherty KA, Parikh K, Byrne C, Johnston D. Mapping the electrophysiological and morphological properties of CA1 pyramidal neurons along the longitudinal hippocampal axis. *Hippocampus.* 2016 Mar;26(3):341-61. doi: 10.1002/hipo.22526. Epub 2015 Oct 10. PMID: 26333017; PMCID: PMC4760884.

Manabe, T., Wyllie, D.J., Perkel, D.J., and Nicoll, R.A. (1993). Modulation of synaptic transmission and long-term potentiation: effects on paired pulse facilitation and EPSC variance in the CA1 region of the hippocampus. *J. Neurophysiol.* 70, 1451–1459.

Matos M, Bosson A, Riebe I, Reynell C, Vallée J, Laplante I, Panatier A, Robitaille R, Lacaille JC. Astrocytes detect and upregulate transmission at inhibitory synapses of somatostatin interneurons onto pyramidal cells. *Nat Commun.* 2018 Oct 12;9(1):4254. doi: 10.1038/s41467-018-06731-y. PMID: 30315174; PMCID: PMC6185912.

Matsuoka Y, Furuyashiki T, Yamada K, Nagai T, Bito H, Tanaka Y, Kitaoka S, Ushikubi F, Nabeshima T, Narumiya S: Prostaglandin e receptor ep1 controls impulsive behavior under stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:16066-16071.

Martínez-Gras, I., Pérez-Nievas, B.G., García-Bueno, B., Madrigal, J.L.M., Andrés-Esteban, E., Rodríguez-Jiménez, R., Hoenicka, J., Palomo, T., Rubio, G., and Leza, J.C. (2011). The anti-inflammatory prostaglandin 15d-PGJ2 and its nuclear receptor PPARgamma are decreased in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 128, 15–22.

Maruki K, Izaki Y, Nomura M, Yamauchi T. Differences in paired-pulse facilitation and long-term potentiation between dorsal and ventral CA1 regions in anesthetized rats. *Hippocampus*. 2001;11(6):655-61. doi: 10.1002/hipo.1080. PMID: 11811659.

McNally, J.M., McCarley, R.W., and Brown, R.E. (2013). Impaired GABAergic Neurotransmission in Schizophrenia Underlies Impairments in Cortical Gamma Band Oscillations. *Curr. Psychiatry Rep.* 15, 346.

Miles R, Tóth K, Gulyás AI, Hájos N, Freund TF. Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron*. 1996 Apr;16(4):815-23. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80101-4. PMID: 8607999.

Milior G, Di Castro MA, Sciarria LP, Garofalo S, Branchi I, Ragozzino D, Limatola C, Maggi L. Electrophysiological Properties of CA1 Pyramidal Neurons along the Longitudinal Axis of the Mouse Hippocampus. *Sci Rep*. 2016 Dec 6;6:38242. doi: 10.1038/srep38242. PMID: 27922053; PMCID: PMC5138623.

Misane I, Kruis A, Pieneman AW, Ögren SO, Stiedl O. GABA(A) receptor activation in the CA1 area of the dorsal hippocampus impairs consolidation of conditioned contextual fear in C57BL/6J mice. *Behav Brain Res*. 2013 Feb 1;238:160-9. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.027. Epub 2012 Oct 22. PMID: 23098796.

Mizutani, Y., Ohi, Y., Kimura, S., Miyazawa, K., Goto, S., and Haji, A. (2015). Effects of prostaglandin E2 on synaptic transmission in the rat spinal trigeminal subnucleus caudalis. *Brain Res*. 1625, 29–38.

Müller, N. (2019). COX-2 Inhibitors, Aspirin, and Other Potential Anti-Inflammatory Treatments for Psychiatric Disorders. *Front. Psychiatry* 10.

Müller, N., Strassnig, M., Schwarz, M.J., Ulmschneider, M., and Riedel, M. (2004). COX-2 inhibitors as adjunctive therapy in schizophrenia. *Expert Opin. Investig. Drugs* 13, 1033–1044.

Müller, N., Weidinger, E., Leitner, B., and Schwarz, M.J. (2015). The role of inflammation in schizophrenia. *Front. Neurosci*. 9.

Müller N, Schwarz MJ. (2008) COX-2 inhibition in schizophrenia and major depression. *Curr Pharm Des.*;14(14):1452-65. doi: 10.2174/138161208784480243. PMID: 18537668.

Nitta, M., Kishimoto, T., Müller, N., Weiser, M., Davidson, M., Kane, J.M., and Correll, C.U. (2013). Adjunctive Use of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs for Schizophrenia: A Meta-analytic Investigation of Randomized Controlled Trials. *Schizophr. Bull.* 39, 1230–1241.

Nugent, F.S., Penick, E.C., and Kauer, J.A. (2007). Opioids block long-term potentiation of inhibitory synapses. *Nature* 446, 1086–1090.

Papatheodoropoulos C, Kostopoulos G. Decreased ability of rat temporal hippocampal CA1 region to produce long-term potentiation. *Neurosci Lett*. 2000 Feb 4;279(3):177-80. doi: 10.1016/s0304-3940(99)01002-2. PMID: 10688058.

Pelkey, K.A., Chittajallu, R., Craig, M.T., Tricoire, L., Wester, J.C., and McBain, C.J. (2017). Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons. *Physiol. Rev.* 97, 1619–1747.

Perea, G., and Araque, A. (2007). Astrocytes Potentiate Transmitter Release at Single Hippocampal Synapses. *Science* 317, 1083–1086.

Perea, G., Gómez, R., Mederos, S., Covelo, A., Ballesteros, J.J., Schlosser, L., Hernández-Vivanco, A., Martín-Fernández, M., Quintana, R., Rayan, A., et al. (2016). Activity-dependent switch of GABAergic inhibition into glutamatergic excitation in astrocyte-neuron networks. *ELife* 5. doi: 10.7554/eLife.20362. PMID: 28012274; PMCID: PMC5231406.

Pérez, M.Á., Morales, C., Santander, O., García, F., Gómez, I., Peñaloza-Sancho, V., Fuentealba, P., Dagnino-Subiabre, A., Moya, P.R., and Fuenzalida, M. (2019). Ketamine-Treatment During Late Adolescence Impairs Inhibitory Synaptic Transmission in the Prefrontal Cortex and Working Memory in Adult Rats. *Front. Cell. Neurosci.* 13.

Pinard, A., Seddik, R., and Bettler, B. (2010). GABAB receptors: physiological functions and mechanisms of diversity. *Adv. Pharmacol. San Diego Calif* 58, 231–255.

Pitkänen A, Pikkarainen M, Nurminen N, Ylinen A. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann N Y Acad Sci.* 2000 Jun;911:369-91. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06738.x. PMID: 10911886.

Preston, A.R., and Eichenbaum, H. (2013). Interplay of Hippocampus and Prefrontal Cortex in Memory. *Curr. Biol.* 23, R764–R773.

Price, C.J., Cauli, B., Kovacs, E.R., Kulik, A., Lambolez, B., Shigemoto, R., and Capogna, M. (2005). Neurogliaform Neurons Form a Novel Inhibitory Network in the Hippocampal CA1 Area. *J. Neurosci.* 25, 6775–6786.

Rajasethupathy, P., Sankaran, S., Marshel, J.H., Kim, C.K., Ferenczi, E., Lee, S.Y., Berndt, A., Ramakrishnan, C., Jaffe, A., Lo, M., et al. (2015). Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature* 526, 653–659.

Rio, C.A.C., Lawrence, J.J., Erdelyi, F., Szabo, G., and McBain, C.J. (2011). Cholinergic modulation amplifies the intrinsic oscillatory properties of CA1 hippocampal cholecystokinin-positive interneurons. *J. Physiol.* 589, 609–627.

Risold PY, Swanson LW. Structural evidence for functional domains in the rat hippocampus. *Science.* 1996 Jun 7;272(5267):1484-6. doi: 10.1126/science.272.5267.1484. PMID: 8633241.

Roberts AC, Tomic DL, Parkinson CH, Roeling TA, Cutter DJ, Robbins TW, Everitt BJ. Forebrain connectivity of the prefrontal cortex in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*): an anterograde and retrograde tract-tracing study. *J Comp Neurol.* 2007 May 1;502(1):86-112. doi: 10.1002/cne.21300. PMID: 17335041.

Romo-Parra, H., Treviño, M., Heinemann, U., and Gutiérrez, R. (2008). GABA actions in hippocampal area CA3 during postnatal development: differential shift from depolarizing to hyperpolarizing in somatic and dendritic compartments. *J. Neurophysiol.* 99, 1523–1534.

Ruden, J.B., Dugan, L.L., and Konradi, C. (2021). Parvalbumin interneuron vulnerability and brain disorders. *Neuropsychopharmacology* 46, 279–287.

Sabbagh, J.J., Murtishaw, A.S., Bolton, M.M., Heaney, C.F., Langhardt, M., and Kinney, J.W. (2013). Chronic ketamine produces altered distribution of parvalbumin-positive cells in the hippocampus of adult rats. *Neurosci. Lett.* 550, 69–74.

Sachs D, Villarreal C, Cunha F, Parada C, Ferreira Sh. The role of PKA and PKCepsilon pathways in prostaglandin E2-mediated hypernociception. *Br J Pharmacol.* 2009 Mar;156(5):826-34. doi: 10.1111/j.1476-5381.2008.00093.x. Epub 2009 Feb 13. PMID: 19220288; PMCID: PMC2697751.

Sang, N., Zhang, J., Marcheselli, V., Bazan, N.G., and Chen, C. (2005). Postsynaptically synthesized prostaglandin E2 (PGE2) modulates hippocampal synaptic transmission via a presynaptic PGE2 EP2 receptor. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 9858–9870.

Sanzgiri, R.P., Araque, A., and Haydon, P.G. (1999). Prostaglandin E(2) stimulates glutamate receptor-dependent astrocyte neuromodulation in cultured hippocampal cells. *J. Neurobiol.* 41, 221–229.

Sigel, E., and Steinmann, M.E. (2012). Structure, function, and modulation of GABA(A) receptors. *J. Biol. Chem.* 287, 40224–40231.

Sigurdsson, T., and Duvarci, S. (2016). Hippocampal-Prefrontal Interactions in Cognition, Behavior and Psychiatric Disease. *Front. Syst. Neurosci.* 9.

Sik, A., Penttonen, M., Ylinen, A., and Buzsáki, G. (1995). Hippocampal CA1 interneurons: an in vivo intracellular labeling study. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 15, 6651–6665.

Simmons, D.L., Botting, R.M., and Hla, T. (2004). Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacol. Rev.* 56, 387–437.

Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL (1996) Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenase)-1 and -2. *J Biol Chem* 271: 33157-33160.

Song, Q., Fan, C., Wang, P., Li, Y., Yang, M., and Yu, S.Y. (2018). Hippocampal CA1 β CaMKII mediates neuroinflammatory responses via COX-2/PGE2 signaling pathways in depression. *J. Neuroinflammation* 15, 338.

Sugimoto, Y., and Narumiya, S. (2007). Prostaglandin E Receptors. *J. Biol. Chem.* 282, 11613–11617.

Taube JS. The head direction signal: origins and sensory-motor integration. *Annu Rev Neurosci.* 2007;30:181-207. doi: 10.1146/annurev.neuro.29.051605.112854. PMID: 17341158.

Tidball P, Burn HV, Teh KL, Volianskis A, Collingridge GL, Fitzjohn SM. Differential ability of the dorsal and ventral rat hippocampus to exhibit group I metabotropic glutamate receptor-dependent synaptic and intrinsic plasticity. *Brain Neurosci Adv.* 2017 Jan;1(1):2398212816689792. doi: 10.1177/2398212816689792. Epub 2017 Jan 24. PMID: 28413831; PMCID: PMC5390859.

Thierry AM, Gioanni Y, Dégénétais E, Glowinski J. Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus.* 2000;10(4):411-9. doi: 10.1002/1098-1063(2000)10:4<411::AID-HIPO7>3.0.CO;2-A. PMID: 10985280.

Tremblay R, Lee S, Rudy B. GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron.* 2016 Jul 20;91(2):260-92. doi: 10.1016/j.neuron.2016.06.033. PMID: 27477017; PMCID: PMC4980915.

Trépanier, M.O., Hopperton, K.E., Mizrahi, R., Mechawar, N., and Bazinet, R.P. (2016). Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: a systematic review. *Mol. Psychiatry* 21, 1009–1026.

Trompoukis G, Papatheodoropoulos C. Dorsal-Ventral Differences in Modulation of Synaptic Transmission in the Hippocampus. *Front Synaptic Neurosci.* 2020 Jun 18;12:24. doi: 10.3389/fnsyn.2020.00024. PMID: 32625076; PMCID: PMC7316154

Udakis, M., Pedrosa, V., Chamberlain, S.E.L., Clopath, C., and Mellor, J.R. (2020). Interneuron-specific plasticity at parvalbumin and somatostatin inhibitory synapses onto CA1 pyramidal neurons shapes hippocampal output. *Nat. Commun.* 11, 4395.

van Groen T, Wyss JM. The connections of presubiculum and parasubiculum in the rat. *Brain Res.* 1990 Jun 4;518(1-2):227-43. doi: 10.1016/0006-8993(90)90976-i. PMID: 1697208.

Van Groen T, Wyss JM. Connections of the retrosplenial granular b cortex in the rat. *J Comp Neurol.* 2003 Aug 25;463(3):249-63. doi: 10.1002/cne.10757. PMID: 12820159.

Vane JR, Bakhle YS, Botting RM (1998) Cyclooxygenase 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 38: 97-120.

von Engelhardt J, Mack V, Sprengel R, Kavenstock N, Li KW, Stern-Bach Y, Smit AB, Seeburg PH, Monyer H. CKAMP44: a brain-specific protein attenuating short-term synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Science.* 2010 Mar 19;327(5972):1518-22. doi: 10.1126/science.1184178. Epub 2010 Feb 25. PMID: 20185686.

Wall, M.J., and Usowicz, M.M. (1997). Development of Action Potential-dependent and Independent Spontaneous GABAA Receptor-mediated Currents in Granule Cells of Postnatal Rat Cerebellum. *Eur. J. Neurosci.* 9, 533–548.

Witter MP, Amaral DG. Entorhinal cortex of the monkey: V. Projections to the dentate gyrus, hippocampus, and subicular complex. *J Comp Neurol.* 1991 May 15;307(3):437-59. doi: 10.1002/cne.903070308. PMID: 1713237.

Witter MP, Groenewegen HJ. Laminar origin and septotemporal distribution of entorhinal and perirhinal projections to the hippocampus in the cat. *J Comp Neurol.* 1984 Apr 10;224(3):371-85. doi: 10.1002/cne.902240305. PMID: 6715585.

Wolfe, L.S., and Coceani, F. (1979). The Role of Prostaglandins in the Central Nervous System. *Annu. Rev. Physiol.* 41, 669–684.

Xiao, J.-Y., Xiong, B.-R., Zhang, W., Zhou, W.-C., Yang, H., Gao, F., Xiang, H.-B., Manyande, A., Tian, X.-B., and Tian, Y.-K. (2018). PGE2-EP3 signaling exacerbates hippocampus-dependent cognitive impairment after laparotomy by reducing expression levels of hippocampal synaptic plasticity-related proteins in aged mice. *CNS Neurosci. Ther.* 24, 917–929.

Yang, H., and Chen, C. (2008). Cyclooxygenase-2 in synaptic signaling. *Curr. Pharm. Des.* 14, 1443–1451.

Yang G, Dong WH, Hu CL, Mei YA. PGE2 Modulates GABAA Receptors via an EP1 Receptor-Mediated Signaling Pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36(5):1699-711. doi: 10.1159/000430143. PMID: 26183394.

Yang, H., Zhang, J., Breyer, R.M., and Chen, C. (2009). Altered hippocampal long-term synaptic plasticity in mice deficient in the PGE2 EP2 receptor. *J. Neurochem.* 108, 295–304.

Yermakova, A., and O'Banion, M.K. (2000). Cyclooxygenases in the central nervous system: implications for treatment of neurological disorders. *Curr. Pharm. Des.* 6, 1755–1776.

Yu JY, Fang P, Wang C, Wang XX, Li K, Gong Q, Luo BY, Wang XD. Dorsal CA1 interneurons contribute to acute stress-induced spatial memory deficits. *Neuropharmacology.* 2018 Jun;135:474-486. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.04.002. Epub 2018 Apr 5. PMID: 29626564.

Zeithamova, D., and Preston, A.R. (2010). Flexible Memories: Differential Roles for Medial Temporal Lobe and Prefrontal Cortex in Cross-Episode Binding. *J. Neurosci.* 30, 14676–14684.

Zhou, Q., Petersen, C.C.H., and Nicoll, R.A. (2000). Effects of reduced vesicular filling on synaptic transmission in rat hippocampal neurones. *J. Physiol.* 525, 195–206.

Zhu, P., Genc, A., Zhang, X., Zhang, J., Bazan, N.G., and Chen, C. (2005). Heterogeneous expression and regulation of hippocampal prostaglandin E2 receptors. *J. Neurosci. Res.* 81, 817–826.