



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA

*Canales de potasio dependientes de calcio y,
rectificadores anómalos presentes en la
sinapsis cortico-estriatal de la rata.*

TESIS

Que para obtener el Título de

BIOLOGA

Presenta:

Laura Verónica Mateos Reyna

Asesor: Dr. Jaime Aurelio Barral Caballero

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México.

2008





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Para la realización del presente trabajo se contó con el financiamiento del **Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)** de la **Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA)** de la **Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)** (IN204407); así como financiamiento otorgado por el **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, 81518)**, al Dr. Jaime Aurelio Barral Caballero.

El trabajo experimental se realizó en el **Laboratorio de Electrofisiología del Proyecto Neurociencias** en la **Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y Educación (UIICSE)** de la **Facultad de Estudios Superiores Iztacala** de la **Universidad Nacional Autónoma de México** durante el periodo Diciembre de 2006 a Septiembre de 2008.

Este trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del

Dr. Jaime Aurelio Barral Caballero.

Proyecto Neurociencias, UIICSE. FES Iztacala, UNAM.

Agradecimientos

“Dad gracias en todo, porque esta es la voluntad de Dios para con vosotros en Cristo Jesús”. 1 Tesalonicenses 5:18.

En primer lugar agradezco a mi Padre Celestial, a mi Señor Jesucristo y al Espíritu Santo por “todo” lo que hicieron, hacen y seguirán haciendo en mi vida; gracias por las bendiciones derramadas sobre mí, por haberme dado la capacidad, la fortaleza, la inteligencia, vida y muchas tantas cosas más que necesite en ese momento. Gracias por todo lo bueno y lo malo que pasó en el transcurso de este tiempo y que fue necesario para poder concluir esta etapa de mi vida y ver realizado este proyecto. GRACIAS DIOS!!!

Agradezco a mis padres: Alfredo Mateos Bustos y Yolanda Reyna Sotelo, por darme la oportunidad de estudiar una carrera, por recordarme continuamente que debo superarme y buscar lo mejor, por abrirme camino en el inicio de mi vida, por los sacrificios que hicieron y siguen haciendo para que tenga una vida mejor con oportunidades y privilegios, pero sobre todo por su amor y apoyo incondicional...

LOS AMO!!!


Gracias a ti, Víctor Martínez, mi amigo, compañero, confidente y mucho más... por haber estado ahí en todo momento para escucharme, por haber aguantado este proceso junto conmigo y ayudarme a que fuera más “fácil” para mí ☺!

Gracias a mi pastor, Jesús González Retana, por alentarme a no desistir, por darme una palabra o consejo en el momento preciso, por ser mi pastor y por dejarse usar por el Señor para traer bendición a mi vida. Dios le bendiga a usted y a su familia en abundancia eternamente!!!

Dr. Jaime: espero pueda conocer cuan agradecida estoy con usted, primeramente por haberme aceptado en su laboratorio, hacerme parte de su equipo de trabajo e involucrarme en sus proyectos. Gracias por compartir conmigo su conocimiento, experiencia y aventuras. Sé que no fue fácil tenerme como estudiante, por lo que también le agradezco el haberme tenido paciencia y confianza. Gracias por haber creído en mí!!!

Agradezco a mis sinodales: Dra. Bertha Segura Alegría, M. en c. María Eugenia Garín, Dra. Mónica González Isaís y el Dr. Ricardo Mejía Zepeda, por haber aceptado ser parte de este proyecto y por haber entregado de su tiempo, conocimiento, experiencia, interés y entusiasmo para mejorarlo.

Sólo me queda agradecer a todas aquellas personas que contribuyeron en mi formación académica, que aportaron algo bueno para mi vida, que estuvieron involucrados directa o indirectamente en este proyecto y que se interesaron por mi desarrollo y crecimiento. Gracias a todos!!!



Dedico este trabajo
a papá y mamá

Y todo lo que hagáis, hacedlo de corazón, como para el Señor y no para los hombres; sabiendo que del Señor recibiréis la recompensa de la herencia, porque a Cristo el Señor servís.

Colosenses 3:23,24.

ÍNDICE

RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
GANGLIOS BASALES (GB)	9
Elementos Estructurales de los Ganglios Basales	9
Proyecciones Hacia los Ganglios Basales	10
Proyecciones Desde los Ganglios Basales	12
Modulación de los Ganglios Basales	12
Lesiones de los Ganglios Basales	14
ESTRIADO O NEOESTRIADO	14
Elementos Neuronales del Neostriado	16
Interneuronas	17
La Sinapsis Cortico-Estriatal	19
TRANSMISIÓN SINÁPTICA	20
Sinapsis Eléctricas	20
Sinapsis Químicas	21
Modulación Sináptica	22
Modulación Presináptica	24
Modulación Presináptica de los Canales de Potasio	26
CANALES IÓNICOS	26
CANALES DE POTASIO	27
Estructura de los Canales de Potasio	27
Clasificación de los Canales de Potasio	28
Canales de Potasio Presentes en las Terminales Sinápticas	33
Modulación de los Canales de Potasio	34
Farmacología de los Canales de Potasio	34
ANTECEDENTES	37

JUSTIFICACIÓN	38
OBJETIVOS	39
GENERALES	39
PARTÍCULARES	39
MATERIAL Y MÉTODOS	40
ORGANISMOS	40
SISTEMA DE ESTIMULACIÓN Y REGISTRO DE POTENCIALES DE CAMPO	40
PROCESAMIENTO DE DATOS	41
PROTOCOLO EXPERIMENTAL (Facilitación por Pulso Pareado)	41
FÁRMACOS UTILIZADOS	44
ANÁLISIS DE DATOS	46
RESULTADOS	47
rHeteropodatoxina-2	47
Phrixotoxina-2	47
rBeKm-1	48
Ergtoxina-1	48
E-4031	50
rCharybdotoxina	50
rSlotoxina	50
rLq2	52
rTertiapin-Q	54
DISCUSIÓN	56
CANALES K_{v4}	56
CANALES K_{v11}	57
CANALES K_{Ca}	58
CANALES K_{ir}	60
CONCLUSIONES	62
LITERATURA CITADA	63

RESUMEN.

El neostriado (núcleo caudado y putamen) forma parte de los ganglios basales, los cuales están involucrados en la regulación de funciones motoras (mantenimiento de la postura, así como en la planificación y ejecución de movimiento), su disfunción causa enfermedades como la enfermedad de Parkinson, de Huntington y el Hemibalismo. Este núcleo recibe numerosas aferencias glutamatérgicas de la corteza cerebral sensorial, motora y de asociación, asimismo recibe información de los núcleos intralaminares del tálamo. También recibe entradas dopaminérgicas de la sustancia *nigra pars compacta* y entradas serotoninérgicas del núcleo del Rafe dorsal así como entradas del núcleo basolateral de la amígdala para el núcleo *accumbens*.

Por otro lado, los canales de potasio participan en un gran número de funciones celulares, como el control de la excitabilidad eléctrica de la célula, el restablecimiento del potencial de membrana, participación en la hiperpolarización, modulación del rango de disparo, y modulación sobre la liberación del neurotransmisor en el sistema nervioso.

En el presente trabajo se investigó qué tipo de canales de potasio de las familias rectificador entrantes, dependientes de calcio y algunos dependientes de voltaje, se encuentran presentes en las terminales glutamatérgicas de la sinapsis cortico-estriatal de la rata. Para identificarlos se utilizaron registros extracelulares de potenciales de campo, el protocolo de Facilitación por Pulso Pareado (FPP), y bloqueo farmacológico. Los bloqueadores específicos utilizados fueron rErgoxin, E-4031, rBeKm-1, rHeteropodatoxin-2, Phrixotoxin-2, rCharybdotoxin, rSlotoxin, rLq2 y rTertiapin-Q.

Nuestros experimentos mostraron que los canales dependientes de voltaje de la familia K_V4 (2 y 3) y rectificadores anómalos de la subfamilia $K_{IR}1.1$ no se encuentran en la sinapsis corticoestriatal; mientras que los canales de potasio activados por voltaje de la familia K_V11 (ERG) sí participan, aunque su efecto es postsináptico sugiriendo un papel indirecto, ya que no produjeron ningún cambio en la FPP pero sí modificó sus amplitudes. Además, los canales de potasio dependientes de Ca^{2+} tipo BK (Slo) y los rectificadores anómalos dependientes de proteína G (GIRK) parecen encontrarse en el estriado en la parte presináptica, ya que se modificó su FPP, los primeros aumentándola y los segundos disminuyéndola.

INTRODUCCIÓN.

GANGLIOS BASALES (GB).

Los ganglios basales (GB) constituyen una de las piezas más importantes de la estructura cerebral que juega un papel prominente en las funciones motoras, en particular las de planeación, iniciación y ejecución de movimientos (Reiner et al, 1998; Bargas, 1998; Graybiel, 1990). Además, es generalmente aceptado que los GB están involucrados en una variedad de funciones motoras, incluyendo aquellas relacionadas a iniciar y motivar comportamientos (Marín et al, 1998; Graybiel, 1994).

Los GB son un sistema ricamente interconectado en el cerebro anterior y en el cerebro medio de los mamíferos, pájaros y reptiles (Reiner et al, 1998). En muchas especies, incluyendo la mayoría de los mamíferos, el cerebro anterior de los GB es la estructura subcortical telencéflica más prominente. El gran tamaño de este núcleo y la conservación de su estructura sináptica en un amplio rango de especies, hace probable que esta estructura contribuya en funciones muy esenciales del plan organizacional básico del cerebro de vertebrados terrestres (Wilson, 2004; Reiner et al, 1998).

Elementos Estructurales de los Ganglios Basales.

Los GB son un sistema modulador que integra la información sensitiva para el control motor que se constituye por un conjunto de núcleos hallados principalmente en el encéfalo anterior basal. Estos componentes bien definidos, conforman el circuito central para cada sistema (Wilson, 2004). Los GB son un grupo de núcleos neuronales subcorticales localizados en el cerebro anterior, estos son: 1) El núcleo caudado, el putamen (que en conjunto forman el neostriado) y el accumbens; 2) El núcleo subtalamico; 3) El globo pálido externo (GPe) o entopeduncular en la rata; 4) La sustancia *nigra pars compacta* (SNc) y

el tegmento ventral anterior; 5) El globo pálido interno (GPi), la sustancia *nigra pars reticulata* (SNr) y pálido ventral (figura 1) (Bargas et al., 1998).

La organización del marco funcional de los GB de mamíferos se basa en tres vías estriatales de salida distintas (Reiner et al, 1998, Falk et al., 2006):

- La salida de las neuronas estriatales que contienen GABA y péptidos derivados de preprotaciquina como la sustancia P (SP) al globo pálido interno (GPi).
- La salida de las neuronas estriatales que contienen GABA y péptidos derivados de preproencefalina (ENK) al globo pálido externo (GPe).
- La salida de las neuronas estriatales que contienen GABA y péptidos derivados de preprotaciquina como SP a la sustancia *nigra pars reticulata* (SNr).

Proyecciones Hacia los Ganglios Basales.

La mayoría de las regiones de la neocorteza proyectan directamente hacia el caudado y el putamen; las únicas excepciones son la corteza visual primaria y auditiva primaria. Las proyecciones más importantes provienen de las áreas de asociación en los lóbulos frontal y parietal; las cortezas temporal, insular y del cíngulo proyectan también hacia el caudado y el putamen, pero en menor grado (Purves et al, 2001).

Las fuentes de las aferencias corticales hacia el caudado y el putamen reciben aferencias modulatorias subcorticales (figura 2), principalmente de los axones de las neuronas dopaminérgicas en la de la sustancia *nigra pars compacta* y viceversa. En consecuencia, esta estructura puede brindar una modulación por anteroalimentación y por retroalimentación a los ganglios basales (Purves et al, 2001).

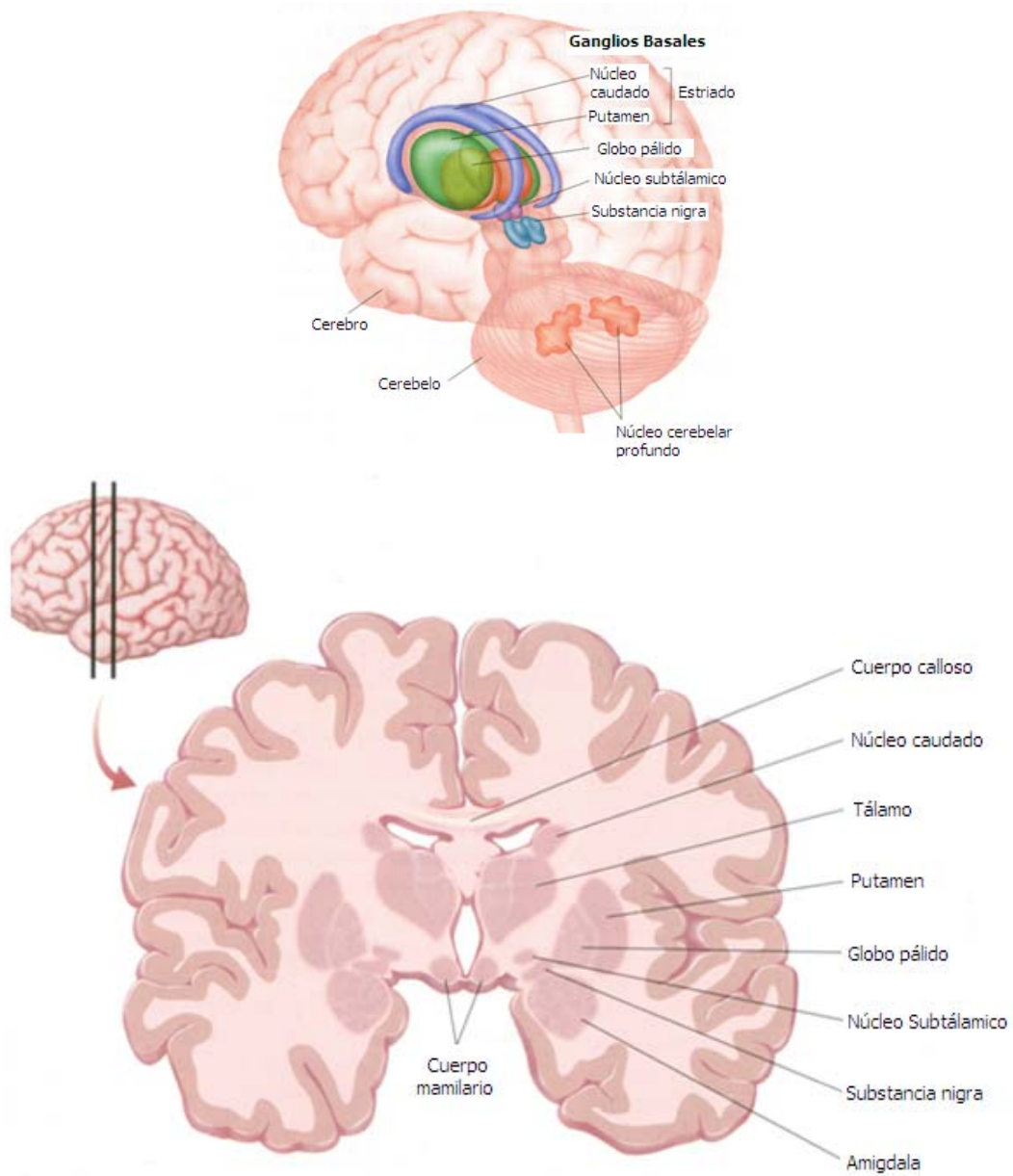


Figura 1. Sección sagital del cerebro humano mostrando los ganglios basales (Modificado de Gazzaniga et al., 1998).

Proyecciones Desde los Ganglios Basales.

Las eferencias de los ganglios basales deben alcanzar la corteza motoras para influir en los comandos motores. Sin embargo, el caudado y el putamen no proyectan directamente hasta el tálamo, por lo que, los que proporcionan las principales eferencias de los ganglios basales son los núcleos intermedios en el globo pálido (figura 2) (Wilson, 2004). El segmento interno del globo pálido recibe aferencias desde el caudado y el putamen, y envía una proyección directamente hasta el tálamo, circuito llamado vía directa; comprende GP y el núcleo subtalámico. El segmento externo también recibe aferencias desde el caudado y el putamen, pero proyectan hacia el núcleo subtalámico, el cual envía a su vez al GPi que proyecta hacia el tálamo. Existe otra vía, conocida como indirecta, que va del caudado y el putamen hacia la sustancia *nigra pars reticulata*, la cual a su vez envía axones al tálamo o al colículo superior (Bargas et al., 1998).

Modulación de los Ganglios Basales.

La modulación proporcionada por los ganglios basales sirve para lograr una planificación, iniciación, coordinación, guía y terminación apropiada de los movimientos voluntarios. Los GB reciben aferencias corticales masivas, tiene una estación principal de procesamiento, posee un relevo intermedio y finalmente envía información al tálamo; luego el tálamo transmite esta información de nuevo a las áreas motora y premotora de la corteza para influir en el control cortical del movimiento voluntario. Los ganglios basales desempeñan una parte característica en la planificación, la iniciación y la terminación de los movimientos, sobre todo aquellos con una dimensión cognitiva compleja (Purves et al, 2001). La importancia de la modulación motora por los GB es demostrada por el déficit en la función motora que se desarrolla cuando esta región es afectada.

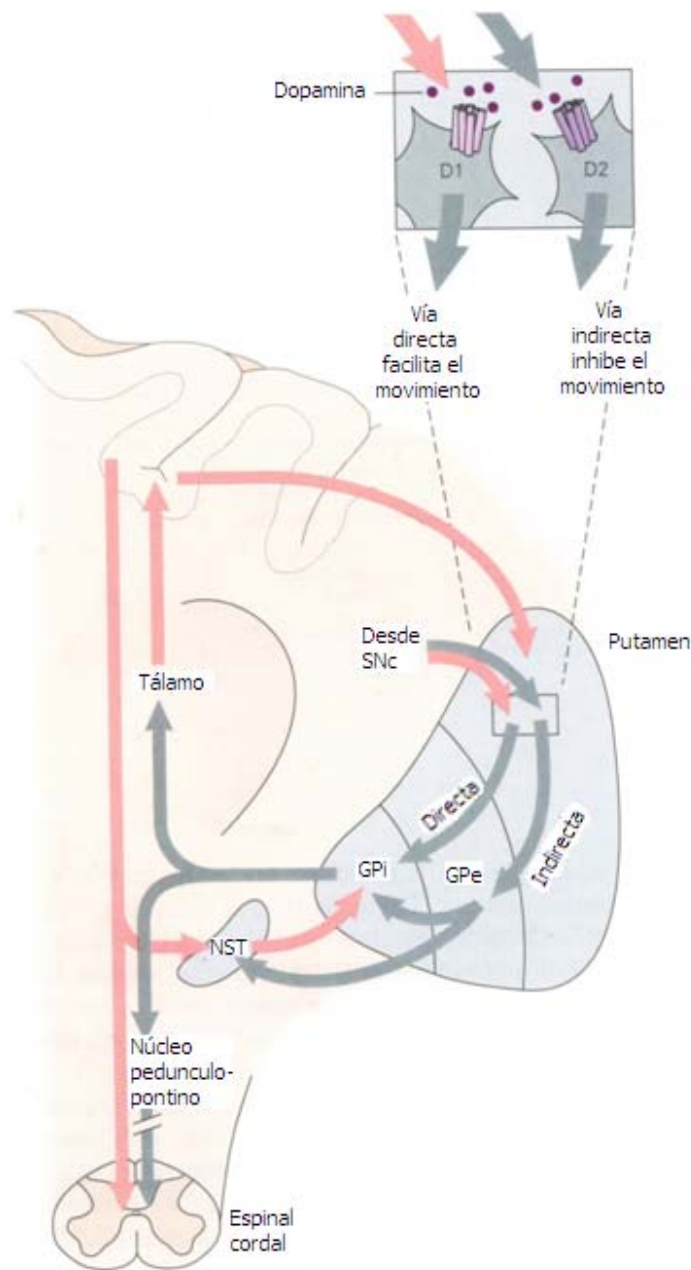


Figura 2. Conexiones anatómicas del circuito entre los ganglios basales, el tálamo y la corteza, con indicación de las vías paralelas directas e indirectas desde el cuerpo estriado hasta los núcleos de referencia de los ganglios basales. Las vías inhibitorias se muestran en forma de flechas grises; las vías excitatorias de flechas de color rosa. GPe, segmento externo del globo pálido; GPi, segmento interno del globo pálido; SNc, parte compacta de la sustancia nigra; NST, núcleo subtálamico. (Modificada de Kandel et al, 2001)

El principal efecto del daño es la dificultad en la iniciación, la ejecución y la coordinación de secuencias complejas de movimientos; la capacidad para contraer los músculos, la producción de movimientos involuntarios y las funciones autonómicas (viscerales) quedan intactas.

Lesiones de los Ganglios Basales.

La mayoría de las funciones aceptadas de los GB están basadas en observaciones de disfunciones humanas asociadas con patologías degenerativas que atacan estas estructuras. En todos estos casos estas enfermedades producen severos déficits en la generación del movimiento. El déficit que se producen a causa de las lesiones de los ganglios basales se caracteriza por la dificultad de la planificación y la ejecución de actos motores completos. La enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington son ejemplo de esto. Cada uno de estos comprende la degeneración de una estación de procesamiento o de relevo específica en los ganglios basales (Wilson, 2004). En la enfermedad de Parkinson (donde los movimientos se vuelven más difíciles de realizar como si el cuerpo se hiciera de alguna manera rígido y resistente a los cambios en la posición), se produce una degeneración bilateral de la sustancia *nigra*; en la enfermedad de Huntington (movimientos inútiles y no deseados interfieren con la ejecución de los útiles y deseados) degenera en forma bilateral el núcleo caudado (Purves et al, 2001).

ESTRIADO O NEOESTRIADO.

La anatomía del estriado está bien documentada en diferentes especies animales. La característica más sorprendente es la convergencia masiva de las aferencias de todas las áreas de la corteza dentro del estriado (Smith y Bolam, 1990). Esta amplia distribución sugiere que la proyección cortico-estriatal opera para recibir varias entradas diferentes e integra esta información en las neuronas blanco del estriado (Calabresi et al, 1996).

La región receptiva del estriado no posee una densidad celular uniforme. A pesar de que la mayor parte de sus células son del mismo tipo, algunas de ellas tienden a aglomerarse formando islas o parches, mientras que la mayoría queda situada entre dichas islas formando un tejido menos denso denominado matriz estriatal. Las capas profundas de la corteza cerebral proyectan hacia los parches o acúmulos estriatales mientras que las capas más superficiales proyectan hacia la matriz (Bargas et al., 1998).

Muchas de las entradas de los GB de otras estructuras del cerebro llegan al neostriado, el cual consiste en el núcleo caudado y el putamen (Gazzaniga et al., 1998). Dentro del núcleo caudado y del putamen existen entradas de las áreas sensorial, motora y cortical de asociación convergen con entradas del núcleo talámico intralaminar, entradas dopaminérgicas de la sustancia *nigra pars compacta* (SNc) y entradas serotoninérgicas del núcleo rafe dorsal (Wilson, 2004).

La salida del neostriado proyecta exclusivamente a las estructuras de los GB. Los blancos principales de los axones son estos tres núcleos: segmento externo del globo pálido (GPe), segmento interno del globo pálido (GPi) y la sustancia *nigra pars reticulata* (SNr). Estas tres estructuras son muy similares en su organización celular (Smith et al., 1998). Dos de ellas, el GPi y la SNr, proyectan a estructuras fuera de los GB y proveen la principal vía de salida para los resultados de las operaciones neuronales desarrolladas dentro del núcleo (figura 2). Sus blancos están principalmente en el tálamo (mayormente en el núcleo talámico ventral que proyecta hacia las áreas frontales de la corteza, así

como en los núcleos intralaminares), núcleo lateral habenuar y las capas profundas del colículo superior. Las conexiones de los GB son inhibitorias para todas sus estructuras objetivo y deben actuar por transmisión modulada a través de otros circuitos. El núcleo subtalámico es un pequeño pero importante componente de los GB que, como el neostriado, recibe entradas de las regiones frontales de la corteza y proyecciones del GP y de la sustancia *nigra* (Wilson, 2004).

Varias características generales de estas conexiones deben ser reconocidas:

1. Aunque pueden entrar al sistema entradas desde fuera de los GB de varios puntos, incluyendo el núcleo subtalámico, sustancia nigra y GP, muchas señales entran al nivel del neostriado. El neostriado tiene proyecciones recíprocas con la sustancia *nigra* pero no con otras fuentes mayores de aferencias; esto es, que no hay proyecciones directas del neostriado a la corteza o al tálamo.
2. Las proyecciones del neostriado forman dos vías mayores a través de los GB. Una de estas, llamada Vía Directa, es formada por neuronas que tienen proyecciones directas al GPi o a la sustancia *nigra*, y gana acceso inmediato a las salidas de los GB. La otra vía eferente del neostriado, llamada Vía Indirecta, está formada por neuronas que proyectan no más allá del GPe. Estas neuronas pueden afectar las salidas de los GB únicamente por el núcleo subtalámico y sus proyecciones al GPi y a la sustancia *nigra*, o por proyecciones de GPe a la salida de las neuronas.
3. Dentro de los GB hay varias estructuras pares conectadas recíprocamente, como la que involucra al GPe y al núcleo subtalámico.

Finalmente, el neostriado es el foco natural de nuestra atención en los GB, siendo la más grande de sus estructuras, el recipiente de la mayoría de sus aferencias de entrada, y el origen de dos de las mayores vías a través de los GB.

Elementos Neuronales del Neoestriado.

Neuronas Espinosas Medianas (NEM). El neoestriado tiene en un 95 % neuronas principales de proyección (llamadas así por sus numerosas espinas dendríticas), espinosas medianas, GABAérgicas (figura 3) (Bargas et al., 1998); sus axones salen del neoestriado y establecen sinapsis fuera de él (Lovinger y Tyler, 1996).

Las NEM se pueden agrupar en dos clases dependiendo de sus sitios blancos axonales. Las neuronas que pertenecen a la vía directa están caracterizadas por la presencia de receptores de dopamina-1 (D1) y utiliza sustancia P como péptido co-transmisor; mientras que las neuronas que pertenecen a la vía indirecta porta receptores de dopamina-2 (D2) y utiliza encefalina como un co-transmisor (Falk et al., 2006).

Neuronas Intermedias. El 5 % restante de las neuronas del neoestriado pertenece a las neuronas intermedias o interneuronas, las cuales procesan información derivada fundamentalmente de la corteza cerebral (Falk et al., 2006). Las pocas interneuronas existentes parecen ser muy importantes para determinar el disparo de las neuronas de proyección. Los axones corticales hacen sinapsis directamente sobre estas neuronas (Markram et al., 2004). Los blancos de las interneuronas son neuronas del globo pálido y la sustancia *nigra*; por lo tanto, actúan como integradores finales y transmisores de la información compleja procesada en el caudado y el putamen (Purves et al, 2001).

Las neuronas espinosas intermedias tienen arborizaciones dendríticas muy ramificadas, tachonadas de miles de espinas que reciben contactos sinápticos. Las aferencias corticales de estas neuronas se hacen directamente, a través de sinapsis excitatorias sobre espinas dendríticas (Bolam et al., 2000). Las aferencias moduladoras desde las interneuronas se hacen sobre todo por los tallos de las dendritas. Una excepción importante a esta disposición es la localización de la sinapsis desde la sustancia *nigra* sobre las neuronas espinosas intermedias. Los contactos desde estas neuronas dopaminérgicas también se hacen en las espinas

por lo habitual en estrecha proximidad con las sinapsis corticales (Lovinger y Tyler, 1996; Purves et al, 2001).

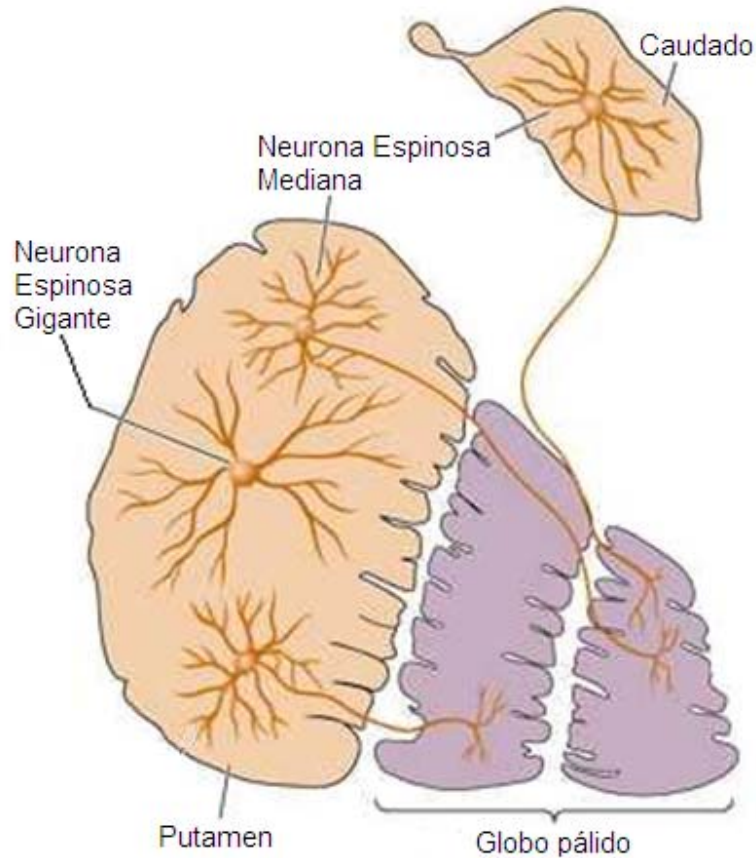


Figura 3. Elementos neuronales en el neostriado. Se observan las neuronas espinosas medianas (MSN) de proyección, llamadas así por el gran número de espinas dendríticas (Modificado de Bear et. al., 2001).

Interneuronas.

Estudios del neostriado han revelado la existencia de diversos tipos de interneuronas. El número de tipos celulares que pueden ser descritos en base a su morfología son más de 8 o 9 y en muchos de los casos son neuronas que no pueden ser categorizadas (Lovinger y Tyler, 1996; Chang et al., 1982). Estas células juntas cuentan por sólo una pequeña porción de las células del

neoestriado, y no está del todo claro qué puede significar la existencia de muchos tipos diferentes de interneuronas raras. Únicamente tres tipos de neuronas pueden ser caracterizadas en categorías separadas funcional y estructuralmente (Wilson, 2004; Kawaguchi, 1993):

A) GABAérgicas.

- (1) **Células en canasta que contienen parvalbúmina:** Células no-espinosas que rodea a los somas de las NEM (Bennett y Bolam, 1994). Son conocidas como interneuronas espinosas rápidas (FS por sus siglas en inglés). Una interneurona tienen una fuerte capacidad para tomar GABA exógeno, y mantenerlo intensamente para la enzima glutamato descarboxilasa que sintetiza GABA y sí misma (Wilson, 2001). Son de tamaño medio, con el soma del mismo tamaño que las neuronas espinales. Estas células representan únicamente el 0.7% (Tepper y Bolam, 2004). Tienen un disparo rápido y sus potenciales son de corta duración y muestran un pequeño postpotencial hiperpolarizante (Tepper et al., 2007).
- (2) **Interneuronas que contienen somatostatina (SOM) y óxido nítrico sintetasa (NOS):** Un segundo grupo de interneuronas espinales de mediano tamaño. Ocupan menos del 0.8 % de las neuronas del estriado (Tepper y Bolam, 2004). Presentan disparos regulares, con una pronunciada adaptación a la frecuencia de disparo y potenciales con despolarización sostenida (Kawaguchi 1993, Wilson, 2001).
- (3) **Interneuronas que contienen calretinina.** Se localizan en las uniones de calcio con la proteína calretinina. Representan el 0.8 % de las neuronas neostriatales de la rata (Rymar et al., 2004). Son de tamaño medio, poseen células no espinales y ramificaciones dendríticas poco frecuentes y están relativamente dispersas en los aspectos caudales del neoestriado (Bennett y Bolam, 1993).

B) Colinérgicas gigantes. Representan menos del 3 % de todas las células en el neoestriado, son las células más grandes a lo largo del tejido de los GB. Tienen un

cuerpo elongado, formando árboles dendríticos, de 50-60 μm de longitud y de 15-25 μm de diámetro. Poseen una enorme influencia sobre el disparo de las neuronas de proyección (Chang y Kita, 1992; Bolam et al., 2000). Recibe entradas inhibitorias GABAérgicas de las neuronas espinales así como entradas dopaminérgicas de la sustancia *nigra* (Bolam y Bennett, 1995).

La Sinapsis Cortico-Estriatal.

La sinapsis cortico-estriatal está localizada en las cabezas de las espinas dendríticas de las neuronas estriatales de salida (Smith y Bolam, 1990). Estas células GABAérgicas (neuronas espinales) representan una gran mayoría en la población neuronal del estriado y proyectan a la sustancia *nigra* y al globo pálido (Calabresi et al, 1996). Las neuronas estriatales también reciben entradas dopaminérgicas (DA) de la sustancia *nigra pars compacta* (Kandel et al., 2000; Falk et al., 2006). La sinapsis DA está localizada en los cuellos de las espinas y están en una posición estratégica para regular las entradas corticales (Kandel et al., 2000).

El transmisor usado en la proyección cortico-estriatal es conocida por ser un aminoácido excitatorio, el cual es glutamato (von Bohlen y Dermietzel, 2006). Las neuronas cortico-estriatales de rata presentan un cambio en el potencial de la membrana. Cuando la despolarización espontanea de la membrana cortical alcanza el umbral para activar los potenciales de acción causan un disparo de las neuronas cortico-estriatales y activan cambios sincronizados en el potencial de membrana en las neuronas estriatales vía liberación del glutamato (Calabresi et al, 1996).

TRANSMISIÓN SINÁPTICA.

La principal forma de comunicación neuronal en el sistema nervioso es por la transmisión sináptica, donde la terminal nerviosa presináptica interactúa con el blanco postsináptico para producir una respuesta sináptica, transfiriendo información de neurona a neurona (Meir et al., 1999). Existen dos clases generales de sinapsis: las sinapsis eléctricas y las sinapsis químicas. En ambos tipos existen estructuras membranales especiales que apuntan a donde la célula de entrada (llamada célula presináptica) hacen contacto con la célula de salida (llamada célula postsináptica) (Matthews, 2003; Engelman y MacDermott, 2004).

Sinapsis Eléctricas.

Las sinapsis eléctricas se encuentran en todo el sistema nervioso, aunque constituyen una minoría. Las membranas de las dos neuronas comunicantes están extraordinariamente próximas entre sí y conectadas por un tipo especial de contacto intercelular denominado unión en hendidura (gap junction) (Kandel et al., 2000). Estas uniones contienen canales apareados y alineados con precisión en la membrana de cada neurona, de modo que cada par de canales forma un poro (Blankenship, 2003). En consecuencia, distintas sustancias pueden difundir entre el citoplasma de las neuronas presinápticas y postsinápticas (Nicholls et al., 2001). La fuente de corriente es la diferencia de potencial generada localmente por el potencial de acción. Esta transmisión puede ser bidireccional; además, es extraordinariamente rápida, dado que el flujo pasivo de corriente a través de la unión en hendidura es casi instantáneo, ya que pasa de la célula presináptica directamente a la postsináptica, sin intermediarios químicos (Matthews, 2003).

Sinapsis Químicas.

En la sinapsis química, un potencial de acción en la célula presináptica causa la liberación de una sustancia química (llamada neurotransmisor), la cual difunde a través del espacio celular y cambia el potencial de membrana de la célula postsináptica (Matthews, 2003). La separación entre neuronas presinápticas y postsinápticas es sustancialmente mayor en las sinapsis químicas que en las eléctricas, y se denomina hendidura sináptica (Nicholls et al., 2001). La característica clave de las sinapsis químicas es la presencia de vesículas sinápticas en el interior de la terminación presináptica; los organelos están llenos de uno más neurotransmisores, las señales químicas secretadas desde la neurona presináptica (Purves et al, 2001) (figura 4).

El proceso se inicia cuando un potencial de acción invade la terminación de la neurona presináptica. El cambio en el potencial de membrana asociado con la llegada del potencial de acción produce la apertura de los canales de calcio regulados por voltaje en la membrana presináptica (Hammond, 2001). Debido al acentuado gradiente de concentración de Ca^{2+} a través de la membrana presináptica, la apertura de estos canales produce un influjo rápido de Ca^{2+} en la terminación presináptica (Byrne y Roberts, 2004). El influjo de calcio hace que la concentración citoplasmática de calcio en la terminación se eleve desde su nivel normalmente bajo hasta un valor mucho más alto, esta elevación permite que las vesículas sinápticas se fusionen con la membrana plasmática de la neurona presináptica, dado que este proceso es dependiente de calcio (Siegel et al., 2006; Engelman y MacDermott, 2004). La fusión de las vesículas hace que su contenido, principalmente los neurotransmisores, sea liberado en la hendidura sináptica. Luego de esta exocitosis, los transmisores difunden y se unen a receptores específicos sobre la membrana de la neurona postsináptica, provocando la apertura de los canales de la membrana postsináptica (Blankenship, 2003). El flujo de corriente resultante inducido por el neurotransmisor altera el potencial de membrana de la neurona postsináptica, aumentando o disminuyendo la

probabilidad de que la neurona dispare un potencial de acción (Rosenzweig et al., 2005).

Modulación Sináptica.

La modulación es importante para numerosas funciones nerviosas tales como: reflejos espinales, activación sensorial, aprendizaje y memoria, entre otros (Barral, 2001). Esta se lleva a cabo en la terminal sináptica, la cual es un lugar donde se regulan los cambios necesarios para la función sináptica; además, es aquí donde ocurre la liberación del neurotransmisor, específicamente en la parte presináptica, por lo que la terminal es un sitio donde se regula la misma mediante varios mecanismos o factores (José, 2005); uno de estos mecanismos es través

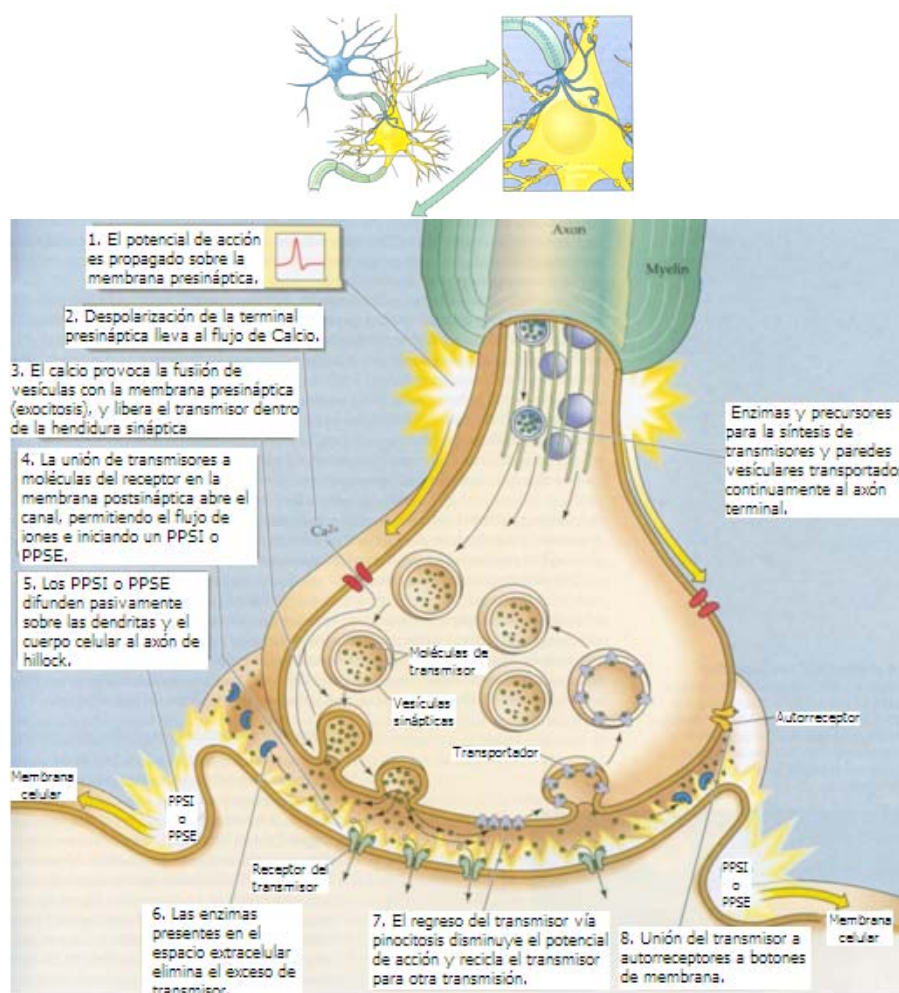


Figura 4. Secuencia del proceso de transmisión sináptica en la sinapsis química. (Modificado de Rosenzweig et al., 2005).

de los canales iónicos (Torres, 2007), ya que estos pueden ser sustratos para la fosforilación por diferentes cinasas, defosforilación por fosfatasas, interacción con el ácido araquidónico y sus metabolitos, así como interacción directa con proteínas-G (Barral, 2001; Gohar, 2006) y, aunque estos no son suficientes por sí mismas para producir el disparo en las terminales sinápticas, si producen dramáticos efectos que afectan profundamente el funcionamiento de los canales, y por lo tanto de la neurona (Miller, 1998).

En general, la modulación sináptica contribuye al funcionamiento de la célula en el proceso de la transmisión sináptica, para así tener una conexión sináptica efectiva al determinar la cantidad de neurotransmisor liberado al espacio sináptico, la disponibilidad con la cual éste es liberado, y la respuesta de la célula postsináptica al transmisor. Por otro lado, estos mecanismos moduladores son sitios de numerosas enfermedades de carácter hereditario o adquirido (Barral, 2001).

Modulación Presináptica.

Existen dos tipos de receptores presinápticos: los ionotrópicos (receptor-canal) los cuales dependen de un neurotransmisor y son de acción rápida, y los metabotrópicos (receptor independiente del canal iónico) los cuales están mediados por proteínas G y mecanismos de señalización de segundos mensajeros y son de acción lenta, (Hammond, 2001; Kandel et al., 2000; Hille, 2001). La activación de receptores presinápticos por diversos neurotransmisores y neuromoduladores puede producir inhibición en la liberación de neurotransmisor. La inhibición presináptica puede servir como un medio de ajustar la eficacia sináptica o prevenir una excesiva liberación de neurotransmisor. Evidencia previa muestra que los moduladores presinápticos inhiben a los canales de Ca^{2+} y activan canales de potasio en la terminal (Wu y Saggau, 1997; Miller, 1998).

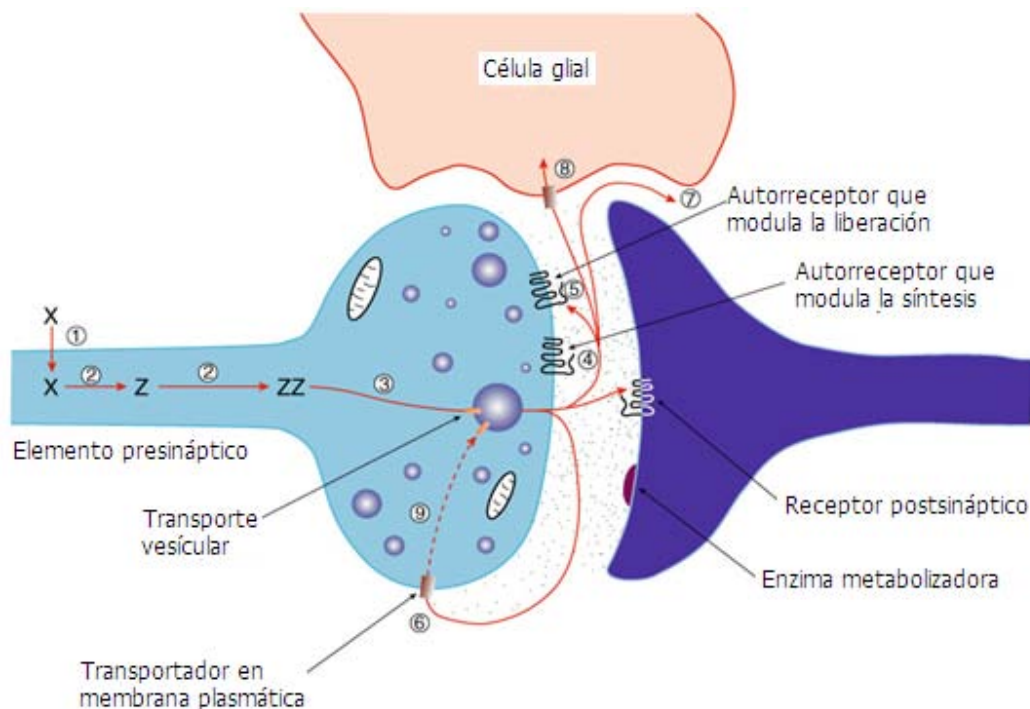


Figura 5. Representación esquemática del ciclo de vida de un neurotransmisor clásico que interviene en la modulación sináptica. 1) Acumulación del aminoácido precursor X dentro de la neurona. 2) El aminoácido precursor es metabolizado secuencialmente para que madure el neurotransmisor ZZ. 3) El neurotransmisor es acumulado en vesículas para su transporte. 4) El neurotransmisor liberado puede interactuar con receptores postsinápticos o 5) autorreceptores que regulan el neurotransmisor liberado, síntesis o disparo. 6) La acción del neurotransmisor es terminada por medio de transporte membranar de alta afinidad asociada con la neurona que lo libero. 7) La acción del neurotransmisor también puede ser terminada por difusión o 8) por la acumulación dentro de la glía a través del transporte membranar. 9) Cuando el neurotransmisor es llevado dentro de la neurona, es sujeto de inactivación metabólica. (Tomado de Byrne y Roberts, 2004).

Los receptores ionotrópicos en la membrana presináptica impactan los elementos moleculares y celulares, modulando dinámicamente las propiedades de liberación y la fuerza sináptica (Engelman y MacDermott, 2004). Mientras que, la activación de receptores metabotrópicos en las terminales presinápticas modula la actividad de canales de Ca^{2+} y K^+ dependientes de voltaje, a través de la activación de segundos mensajeros y fosforilación proteica o por efectos directos de la activación de proteínas-G (Levitan, 1994; Gohar, 2006). La modulación de estos canales puede regular la liberación, controlando el aumento de la entrada

Ca^{2+} en la terminal presináptica durante un potencial de acción (Eliot et al., 1993; Wu y Saggau, 1997).

Modulación Presináptica de los Canales de Potasio.

La modulación presináptica por los canales de potasio consiste en activar conductancias de K^+ , como los rectificadores entrantes u otros canales de K^+ , a través de receptores acoplados a proteínas-G (Chuang et al., 1997; Miller, 1998). Al incrementar la conductancia del ion K^+ se disminuye la duración y amplitud del potencial de acción en la terminal sináptica. Por lo tanto, la depolarización en la terminal es menos efectiva, ya que los canales de Ca^{2+} permanecen menos tiempo abiertos y en consecuencia menor cantidad de neurotransmisor es liberado (Barral, 2001).

CANALES IÓNICOS.

Los canales iónicos de las neuronas están afinados de forma óptima para el procesamiento rápido de la información; estos canales son heterogéneos, de forma que canales diferentes en distintas zonas del sistema nervioso pueden llevar a cabo tareas específicas de transmisión de señales. Los canales iónicos poseen propiedades importantes: conducen, reconocen y seleccionan iones específicos, y se abren y cierran en respuesta a señales eléctricas, mecánicas o químicas específicas (Kandel et al., 2000).

Los canales iónicos están formados por proteínas de membrana que regulan el flujo de iones a través de esta en todas las células (Hille, 2001). Se activan por el cambio en el potencial de membrana, y participan en un gran número de funciones celulares importantes, ya que son reguladores cruciales de la excitabilidad neuronal (Dodson y Forsythe, 2004). Estos canales generalmente actúan hiperpolarizando a las neuronas por medio de su apertura, permitiendo el

flujo de potasio hacia adentro de la célula en un gradiente de concentración (Nicholls et al., 2001).

CANALES DE POTASIO.

Los canales de K^+ permiten el flujo de potasio y son esenciales para la generación de la corriente eléctrica a través de las membranas (Choe, 2002). Son reguladores fundamentales de la excitabilidad ya que coloca potenciales de membrana de reposo y disparos de umbral, repolariza potenciales de acción y limita la excitabilidad (Dodson y Forsythe, 2004). Además, controlan la frecuencia y la forma del potencial de acción, la secreción de hormonas y neurotransmisores y el potencial de membrana de la célula. Sus actividades son reguladas por un número de factores que incluyen los potenciales a través de la membrana celular, calcio citosólico y ATP, la acción de varias cinasas, fosfatasas y segundos mensajeros movilizados por neurotransmisores y hormonas (Miller, 1995; Alexander et al., 2004).

Existe un enorme número de canales de K^+ y cada gen del canal puede ser asignado en una subfamilia en base a la similitud de las secuencias. El nombre de cada gen del canal con el número de la subfamilia (x) y el gen específico dentro de esa subfamilia (y) (ej. $K_{v}x.y$) (Jonas y Kaczmarek, 1996).

Estructura de los Canales de Potasio.

Los canales de potasio se constituyen por cuatro subunidades que están agrupadas para formar una vía que permee el ión a través de la membrana (Samson et al., 2002). Dos hélices transmembranales y un pequeño bucle entre ellas (conocido como bucle o poro P) son el sello de los canales de potasio (Papazian, 1999). Esta arquitectura, de dos hélices internas y un bucle (referidas como 2TM/P) es la característica esencial de los canales de K^+ , pero cada subfamilia de canales está caracterizada por características distintivas. Otras

variaciones de esta estructura básica incluye los canales 4TM/2P, 6TM/P y 8TM/2P (Choe, 2002) (figura 6). El poro primario está formado por una subunidad α (la cual le da selectividad) (Doyle et al., 1998) frecuentemente asociada con una subunidad regulatoria auxiliar β (Roeper y Pongs, 1996), existen varios tipos de subunidades (Coetzee et al., 1999).

Hay más de 70 genes diferentes codificados de las subunidad α de los canales de K^+ en el genoma humano y arriba de 100 proteínas diferentes los que han sido identificadas y esta lista va en aumento (figura 6) (Coetzee et al., 1999). La diversidad de los canales de potasio es creada por la expresión de un gran número de genes, la presencia de varios empalmes diferentes y la formación de canales heteroméricos. De esta manera, los canales pueden desempeñar funciones diferentes por virtud de su localización y densidad en compartimientos neuronales específicos (Dodson y Forsythe, 2004).

Clasificación de los Canales de Potasio.

1. Clasificación estructural: Los canales han sido agrupados dentro de familias y subfamilias basándose en sus propiedades estructurales y funcionales. Existen tres familias principales que son 2TM (dos dominios transmembranales), 4TM y 6TM (Buckingham et al., 2005). Una nomenclatura estandarizada para canales de potasio ha sido propuesta por el subcomité de NC-IUPHAR (Gutman et al, 2003; Yu y Catterall, 2004).

Familia 2TM. Consisten de dos hélices transmembranales (TM) con un bucle o poro P entre ellos (figura 6). La familia de canales de potasio de dominio 2TM es también conocida como familia de canales de potasio de rectificadores entrantes. Esta familia incluye (ver tabla 1):

- 1) Canales de K^+ rectificadores entrantes fuertes ($K_{ir}2.X$). Permiten respuestas largas de despolarización, como el cierre durante los pulsos de despolarización y la apertura con una pronunciada dependencia al voltaje en la hiperpolarización. Son llamados rectificadores entrantes porque la

corriente fluye a través de ellos más fácilmente dentro que afuera de la célula.

- 2) Canales de K^+ rectificadores entrantes activados por proteína G ($K_{ir}3.x$)
- 3) Canales de K^+ sensitivos a ATP ($K_{ir}6.x$, los cuales combinan con receptores sulfonilurea (SUR)). Las subunidades a del poro forman tetrámeros, y canales heterómeros pueden ser formados dentro de subfamilias (ej. $K_{ir}3.2$ con $K_{ir}3.3$).

Tabla 1. Miembros que pertenecen a la familia.

SUBFAMILIA	SUBTIPO	CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES
$K_{ir}1.x$	$K_{ir}1.1$ (ROMK1)	Corriente rectificadora entrante
$K_{ir}2.x$	$K_{ir}2.1, 2.4$ (IRK1 4)	En corazón IK_1 , corriente rectificadora entrante “fuerte”
$K_{ir}3.x$	$K_{ir}3.1, 3.4$ (GIRK1 4)	Corriente rectificadora entrante activada por proteína G
$K_{ir}4.x$	$K_{ir}4.1, 4.2$	Corriente rectificadora entrante
$K_{ir}5.x$	$K_{ir}5.1$	Corriente rectificadora entrante
$K_{ir}6.x$	$K_{ir}6.1, 6.2$	Sensitivo a ATP, corriente rectificadora entrante SUR1, SUR2A, SUR2B
$K_{ir}7.x$	$K_{ir}7.1$	Corriente rectificadora entrante

Familia 4TM. Consisten en dos repeticiones de los canales 2TM/P (figura 6). Los canales de K⁺ de la familia 4TM se cree que son para subyacer las fugas de corriente en las células nativas. Están abiertos en todos los voltajes y son regulados por un amplio arreglo de neurotransmisores y mediadores bioquímicos. El poro primario de la subunidad a contiene dominios de dos poro (de hecho, frecuentemente se refieren a ellos como K2P) y además se prevé que forman dímeros funcionales en vez de los usuales tetrámeros del canal de K⁺. Existe evidencia de que pueden formar heterodímeros dentro de las subfamilias (ej. K2P3.1 con K2P9.1). La división dentro de las subfamilias está basada en propiedades estructurales y funcionales, ver tabla 2. Todos estos canales son insensibles a los bloqueadores clásicos de los canales de K⁺ TEA Y 4-AP, pero son bloqueados por varios grados de iones de bario (Ba²⁺).

Tabla 2. Miembros que conforman la familia 4TM.

SUBFAMILIA	SUBTIPO	CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES
TWIK	K _{2P} 1.1 (TWIK1), K _{2P} 6.1 (TWIK2), K _{2P} 7.1 (KNCK7)	Corriente de origen
TREK	K _{2P} 2.1 (TREK1), K _{2P} 10.1 (TREK2), K _{2P} 4.1 (TRAAK)	Corriente de origen
TASK	K _{2P} 3.1 (TASK1), K _{2P} 9.1 (TASK3), K _{2P} 15.1 (TASK5)	Corriente de origen
TALK	K _{2P} 16.1 (TALK1), K _{2P} 5.1 (TASK2), K _{2P} 17.1 (TASK4)	Corriente de origen
THIK	K _{2P} 13.1 (THIK1), K _{2P} 12.1 (THIK2)	Corriente de origen
TRESK	K _{2P} 18.1 (TRESK1)	-----

Tabla 3. Miembros que se incluyen en la familia

SUBFAMILIA	SUBTIPO	CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES
K_V1.x	K _V 1.1, K _V 1.8, relacionados con los shaker	K _V (1.1, 1.3, 1.5, 1.8) K _A (1.4)
K_V2.X	K _V 2.1, K _V 2.2, relacionados con los Shab	K _V (2.1)
K_V3.X	K _V 3.1, K _V 3.4, relacionados con los Shal	K _V (3.1, 3.2), K _A (3.3, 3.4)
K_V4.X	K _V 4.1, K _V 4.3, relacionados con los Shaw	K _A
K_V7.X	K _V 7.1, 7.5 (KCNQ1-5)	K _V 7.1 I _{K_S} cardiaco, K _V 7.2/7.3 corriente M
K_V10.X	K _V 10.1, 10.2 (eag1, 2); K _V 11.1, 11.3 (erg1-3, herg1, 3); K _V 12.1, 12.3 (elk1-3)	K _V 11.1 I _{K_R} cardiaco
K_{Ca}1.X, K_{Ca}4.x, K_{Ca}5.x (Slo)	K _{Ca} 1.1, K _{Ca} 4.1, 4.2, K _{Ca} 5.1 Slo (BK), Slack, Slick	Maxi K _{Ca} K _{Na} (Slack y Slick)
K_{Ca}2.x, K_{Ca}3.x (SK)	K _{Ca} 2.1, 2.3 (SK1, SK3); K _{Ca} 3.1 (SK4,IK)	SK _{Ca} (K _{Ca} 2.1, 2.3) I _{K_{Ca}} (K _{Ca} 3.1)

Familia 6TM. Son la clase predominante alrededor de los canales de K⁺ dependientes de voltaje. La familia de los canales de K⁺ 6TM comprende la subfamilia de los canales dependientes de voltaje (K_V), las subfamilias KCNQ y EAG (las cuales incluyen los canales herg), la subfamilia Slo activadas por calcio (actualmente con 7TM) y la subfamilia SK activada por Ca₂₊ (figura 6) (Gutman et al., 2003; Meir, 2003a). Como en la familia 2TM, las subunidades a del poro forma

tetrámeros y canales heteroméricos que pueden ser formados dentro de subfamilias (ej. $K_v1.1$. con $K_v1.2$; $KCNQ2$ con $KCNQ3$) (ver tabla 3).

Canales de potasio que están regulados por calcio. Como su conductancia unitaria es grande, se llaman BK para distinguirlos de los canales SK, una población diferente de canales regulados por calcio con una menor conductancia. En neuronas, los canales BK se localizan juntamente con los canales de calcio, moldea la forma del potencial de acción y regula la liberación del transmisor.

Familia 8TM/2P. Son híbridos de los 6TM/P y 2TM/P, y son los primeros encontrados en la levadura (figura 6) (Choe, 2002).

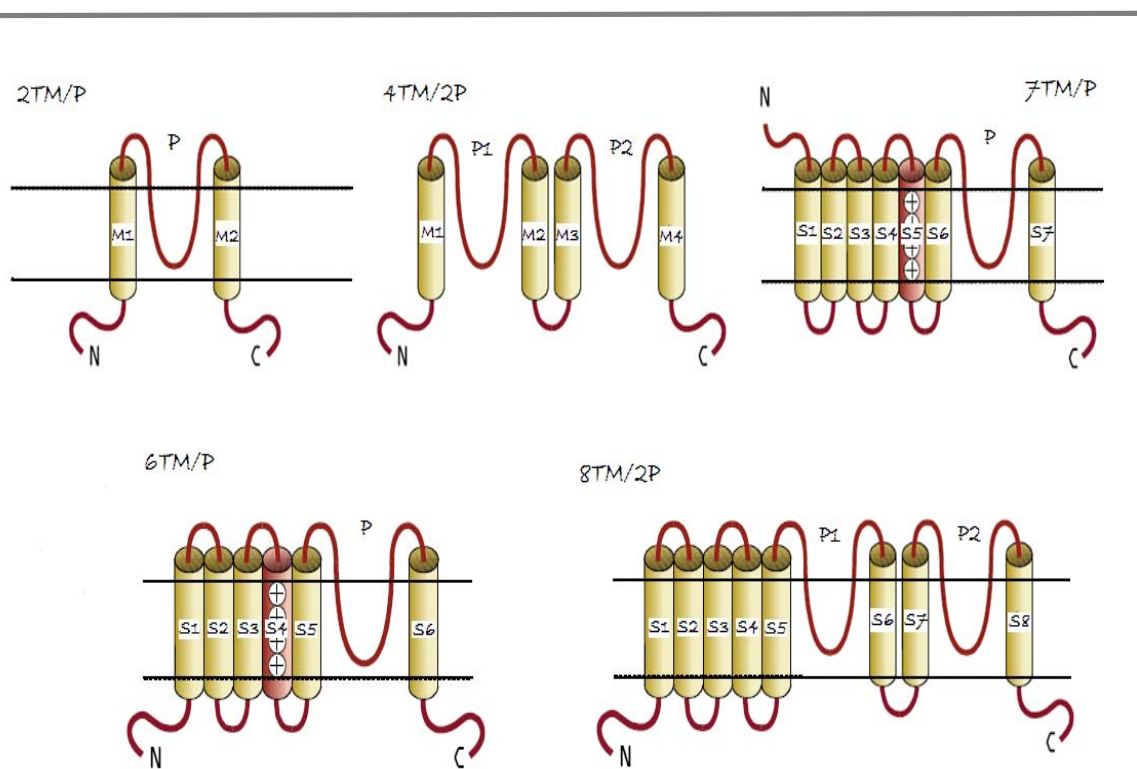


Figura 6. Clases principales de los canales de potasio, clasificación de acuerdo a sus características estructurales. (Modificado de Meir, 2003a).

2. Clasificación Fisiológica. Propiedades de apertura son las mejores para distinguir entre los varios tipos de canales de potasio. Las clases mayores de los canales de potasio están descritas abajo (Meir, et al., 1999):

1. **Canales de potasio rectificando retardado.** Prevalece en la mayoría de las células excitables con potenciales de acción cortos (1-10 ms), son activados por la despolarización y exhiben poca o ninguna inactivación dentro de cientos de milisegundos a segundos.
2. **Canales transitorios rápidos A (KA).** Activados sobre la despolarización, especialmente después de un periodo de hiperpolarización y se inactivan rápidamente, usualmente dentro de 1-100 ms.
3. **Canales activados lentamente (KS).** Mayormente encontrados en las células del corazón, se activan muy lentamente sobre la despolarización, por varios segundos; es menos selectivo que otros canales activados por voltaje.
4. **Canales dependientes de calcio (KCa).** Son activados por concentraciones micromolares de calcio interno o por calcio interno y despolarización. Existen dos tipos, los activados por pequeñas conductancias de calcio (SK) y los activados por grandes conductancias de calcio (BK).
5. **Canales dependientes de ATP (KATP).** Estos canales son insensibles al voltaje, están cerrados normalmente, se activan por un decremento en el nivel de ATP intracelular.
6. **Canales S.** Débilmente sensibles al voltaje, se apagan por el neurotransmisor serotonina; se encuentran comúnmente en neuronas sensoriales de *Aplysia*.

Canales de Potasio Presentes en las Terminales Sinápticas.

Dodson y Forsythe (2004) han confirmado que los canales de potasio están presentes en las terminales sinápticas de los mamíferos; aunque, las terminales

sinápticas también posee otros canales que influyen la conductancia presináptica regulan directa o indirectamente la liberación del transmisor, tales como los canales de K^+ dependientes de Ca^{2+} (BK). Como lo ha notado Hille (2001), cada membrana excitable usa una mezcla de varios canales de potasio para satisfacer sus necesidades funcionales. La terminal sináptica posee muchos canales de K^+ presinápticos, los cuales sirven para la excitabilidad de tono fino, mantener la fidelidad y modular la liberación del transmisor (Dodson y Forsythe, 2004).

Modulación de los Canales de Potasio.

Es bien aceptado que la actividad de los canales iónicos es modulada por la acción de las proteínas quinasas unidas a sistemas de segundos mensajeros. Tal modulación de los canales iónicos permite a una neurona modificar su patrón de disparo y su respuesta a entradas sinápticas sobre el tiempo y, en muchos casos, es sabido que refuerza cambios prolongados en la conducta del animal (Jonas y Kaczmarek, 1996).

Farmacología de los Canales de Potasio.

Dada la importancia de los canales de sodio y potasio para la excitación neuronal, no es sorprendente que algunos organismos hayan desarrollado toxinas específicas de los canales como mecanismos de autodefensa o para capturar presas. Una rica colección de toxinas tiene por blancos selectivos los canales iónicos de las neuronas y otras células. Estas toxinas son útiles no sólo para la supervivencia sino también para estudiar la función de los canales iónico celulares. Aún se sabe que otras toxinas producidas por víboras, arañas, caracoles y otros animales depredadores afectan la liberación de los transmisores, pero todavía no se han identificado sus sitios de acción. Es probable que estos tóxicos sigan proporcionando herramientas útiles para dilucidar la base molecular de la liberación de los neurotransmisores (Purves et al., 2001).

Los agentes farmacológicos comúnmente usados en el estudio de los canales de potasio no son herramientas muy útiles para distinguir las ambigüedades alrededor de los varios tipos de canales (ejemplo, tetraetilamonio y iones de cesio bloquean la mayoría de los canales de potasio). Sin embargo, ciertos agentes, toxinas particularmente, aparecen para ser relativamente selectivos en sus acciones, aunque se han notado algunas instancias de especificidad absoluta para algunos tipos de canales (Hille, 2001). El tetraetilamonio (TEA) es impermeable y sus efectos bloqueantes difieren cuando se aplica en el lado citoplásmico o en el lado extracelular, sugiriendo dos sitios de unión distintos (José, 2005). Un bloqueador de canales de K^+ más específico es el péptido de escorpión noxiustoxina, el cual fue encontrado para actuar sobre las corrientes de los rectificadores retardados. Los canales transitorios rápidos en las terminales nerviosas son bloqueados parcialmente por aplicaciones externas de TEA a concentraciones milimolares de 4-AP (Hille, 2001; José, 2005). Los canales de potasio dependientes de calcio del tipo SK son usualmente resistentes al TEA y son bloqueados por el péptido apamina, que es un componente del veneno de abeja (Torres, 2007), y se utiliza a concentraciones nanomolares. Menos de 1 mM de TEA aplicado externamente usualmente bloquea los canales BK como los niveles nanomolares del veneno de escorpión charybdotoxina (CTX); la acción de CTX muestra ser dependiente de voltaje y estado (Miller, 1985; Meera et al., 2000; Blank et al., 2004). Se ha reportado que los canales K^{Ca2+} de las terminales nerviosas motoras del ratón se bloquean por una serie de CTX homologas (Meir et al., 1999).

Los canales de potasio pueden ser modificados por varias toxinas, neurotransmisores, drogas y iones, ver tabla 4. Las sustancias que afectan estos canales pueden ser divididas dentro de dos amplias categorías: 1) agentes que inhiben o bloquean los canales de potasio dependientes de potasio y 2) los agentes que incrementan la actividad de los canales. Toxinas y varias drogas pertenecen a la primera categoría, alcoholes a la segunda (Meir et al., 1999).

Tabla 4. Agentes bloqueadores de los canales de potasio.

Canal de Potasio	Acción desde el exterior	Acción desde el interior
Transitorio Rápido		
A	TEA, Dendrotoxinas	TEA
Rectificador	TEA, Cs ⁺ , H ⁺ , Ba ²⁺ , Capsaicina,	TEA y QA, Cs ⁺ , Na ⁺ ,
Retardado	Dendrotoxinas, Noxiustoxina	Li ⁺ , Ba ²⁺
K(Ca)	TEA (BK), Cs ⁺ , Apamina (SK), Clotrimazol (IK/SK), Caribdotoxina (BK)	TEA, Na ⁺ , Ba ²⁺
Rectificador entrante	TEA, Cs ⁺ , Rb ⁺ , Na ⁺ , Ba ²⁺ , Sr ²⁺	H ⁺ , Mg ²⁺ , Espermina, Espermidina
K_{ATP}	TEA, Cs ⁺ , Ba ²⁺	TEA, Na ⁺ , Mg ²⁺

Abreviaturas: TEA, tetraetilamonio; Cs⁺, cesio; H⁺, hidrógeno; Ba²⁺, bario; Rb⁺, Rubidio; Na⁺, sodio; Sr²⁺, estroncio; QA; Li⁺, litio; Mg²⁺, magnesio.

ANTECEDENTES.

Después de haber establecido la estructura y funciones generales de los canales de potasio los siguientes puntos a resolver por los investigadores son su distribución, participación y función específica dentro de los organismos (Choe, 2002; Samson et al., 2002; Alexander et al., 2004; Chung et al., 2007). Sabemos que en el cerebro están presentes la mayoría de los tipos de canales de K^+ (Coetzee et al., 1999), ya que como hemos mencionado tiene funciones celulares importantes. Además, gracias al uso de agentes bloqueadores o marcadores, los canales de K^+ se han podido identificar en la corteza cerebral, tálamo, cerebelo, hipotálamo, bulbo olfatorio, estriado, entre otras estructuras del cerebro (Coetzee et al., 1999); aunque de pocos se conoce su ubicación en la célula (axones, somas, dendritas o terminales) (Roeper y Pongs, 1996; Coetzee et al., 1999; Dodson y Forsythe, 2004).

Estudios previos del cerebro sugieren la existencia de canales de potasio dependientes de voltaje K_v (K_v1) (Grissmer et al., 1994; José, 2005; Torres, 2007), rápidos transitorios tipo A (Dodson y Forsythe, 2004; José, 2005), rectificadores entrantes (Ponce et al., 1996; Prüss et al., 2002) y dependientes de calcio (Hille, 2001) identificados mediante el uso de técnicas electrofisiológicas y agentes bloqueadores como 4-AP, cesio, bario, TEA, toxinas específicas para determinados canales, etc. (Qian y Saggau, 1999; Meir et al., 1999; Bogin, 2006).

Para el caso específico de canales de K^+ presentes en las terminales nerviosas es mucho menor la información que se tiene, además de que, los estudios existentes son dispersos al realizarse en diferentes grupos, especies o preparaciones, sin enfocarse en realizar una identificación completa en alguno de ellos (Ponce et al., 1996; Qian y Saggau, 1999; Meir et al., 1999; Hille, 2001).

OBJETIVOS.

GENERALES.

- Estudiar la modulación sináptica producida por la activación de canales de potasio en la sinapsis corticoestriatal de la rata, identificando cuáles de estos canales están presentes en las terminales sinápticas de las aferentes glutamatérgicas que llegan al neocórtex de la rata.
- Identificar qué otros canales de potasio, además de los K_v , se encuentran presentes en las terminales sinápticas cortico-estriatales de la rata mediante el empleo de bloqueadores específicos.

PARTÍCULARES.

- Analizar la acción de bloqueadores de canales de potasio de las familias de canales de K^+ dependientes de calcio, rectificadores anómalos y dependientes de voltaje (K_v4 y K_v11).
- Identificar cual o cuales subfamilias de canales de potasio pueden estar participando en la modulación presináptica cortico-estriatal.
- Determinar si los canales de potasio identificados se encuentran en la porción presináptica o postsináptica.

JUSTIFICACIÓN.

Es claro que los canales de potasio son estructuras críticas para la regulación de la neurotransmisión en el sistema nervioso y que alteraciones en estos pueden generar cambios desde imperceptibles hasta desordenes que se manifiestan en enfermedades tales como, ataxia episódica tipo 1, epilepsia neonatal benigna, distrofia miotónica muscular, síndrome QT largo, síndrome de Barter, hipoglucemia de la infancia, hiperinsulemia persistente en la familia, diabetes *mellitus* entre otras (Ashcroft, 1999). Además, el interés por conocer a profundidad los canales de potasio y aspectos relacionados a estos ha generado una cantidad de conocimiento enorme; sin embargo, estos diminutos elementos son más complejos de lo que podemos imaginar, dejándonos un mayor número de interrogantes. Por lo que, en nuestro deseo de contribuir con una pequeña pero importante pieza del rompecabezas hemos puesto nuestros esfuerzos en alcanzar los objetivos siguientes:

MATERIAL Y MÉTODOS.

ORGANISMOS.

Se utilizaron ratas macho Wistar (*Rattus norvegicus*) de 100 a 120 g de peso, con alimentación *ad libitum*, las cuales se anestesiaron con éter etílico para ser decapitadas y extraer el cerebro rápidamente, éste se colocó en solución salina isotónica saturada (125 mM NaCl, 3 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃, 11 mM Glucosa, 0.2 mM Tiourea y 0.2 mM Ascorbato), con una mezcla de Carbógeno (95 % O₂ y 5 % CO₂) mantenida a un pH de 7.4 y una temperatura de 4 ± 1 °C. Inmediatamente se separaron los bulbos olfatorios, cerebelo y los hemisferios cerebrales para colocarlos en un vibratomo (Campden Instrument, UK) y así obtener rebanadas sagitales de 400 µm de espesor. Las rebanadas se incubaron en solución salina isotónica con carbógeno a temperatura ambiente en un periodo no menor a 60 min (Barral, 2001; José et al., José et al., 2006; von Bohlen y Dermietzel, 2006).

SISTEMA DE ESTIMULACIÓN Y REGISTRO DE POTENCIALES DE CAMPO.

Se emplearon técnicas electrofisiológicas indirectas ya que no es posible introducir un electrodo de registro en las terminales; estimulando las fibras aferentes al neocórtex con electrodos bipolares concéntricos de 50 µm en la punta aproximadamente, se obtuvieron registros extracelulares para evaluar los eventos presinápticos y postsinápticos.

Se tomó una de las rebanadas de cerebro para colocarla en la cámara de registro donde se mantiene el paso de un flujo constante de solución salina 1.0 ± 0.1 ml/min gaseada con carbógeno, a una temperatura constante de 34 ± 0.5 °C, se mantenía vivo el tejido. Estas condiciones se utilizaron para cada experimento.

Como se mencionó anteriormente, el potencial de campo es un registro extracelular de las corrientes iónicas asociadas a la actividad de una población de neuronas, las cuales producen espigas poblacionales, estas espigas se amplifican con la ayuda de un osciloscopio.

Los estímulos se enviaron utilizando un electrodo concéntrico bipolar, que se colocó entre el cuerpo caloso y el estriado, estimulando las fibras corticales aferentes al neostriado. Los estímulos se mandaron digitalmente a través de la computadora, que a su vez llegaban a la unidad aisladora (Digitimer DS2) en donde se reguló la intensidad (0-25 Volts), la duración (0.01-0.04 ms) y la frecuencia (0.4-0.06 Hz). Los potenciales de campo fueron registrados mediante un microelectrodo de vidrio (obtenido a partir de un capilar estirado por calentamiento de 1.0 mm de diámetro externo), con NaCl al 0.9 % utilizada como conductor.

El electrodo de registro se colocó dentro del cuerpo estriado siguiendo las estrías y en paralelo al electrodo de estimulación a una distancia de aproximadamente 0.5 a 1 mm dependiendo de la actividad observada. El potencial de campo se amplificó y se digitalizó.

PROCESAMIENTO DE DATOS.

La señal electrofisiológica obtenida fue transferida a una computadora PC mediante el uso de programas diseñados en un ambiente LabView. Cada trazo registrado fue medido, promediado, analizado y graficado mediante el programa Origin (versión 7.5 Microcal Software, Northampton, MA. U.S.A), Sigma Plot (versión 10.0).

PROTOCOLO EXPERIMENTAL (Facilitación por Pulso Pareado).

Se utilizó el paradigma experimental de facilitación por pulsos pareados (FPP); para entender este paradigma se han planteado varias hipótesis, pero la hipótesis más aceptada es la del calcio (Ca^{2+}) residual propuesta por Katz y Miledi a finales de los años 60's (Katz y Miledi, 1968; 1970) la cual se basa en la afirmación de que la entrada de Ca^{2+} es esencial para la liberación de neurotransmisor (figuras 7A y 7B). Este protocolo ha sido utilizado por un sinnúmero de investigadores para estudiar eventos presinápticos (Dunwiddie y Hass, 1985; Mennerick y Zorumski, 1995; Isaacson y Walmsley, 1995; Hernández–Echegaray, 1998; Barral, 2001; 2003; José et al., 2007).

En ese sentido, una sustancia que produzca la inactivación de corrientes de K^+ en la terminal presináptica, provocaría incremento en el influjo de Ca^{2+} extracelular (Andrew y Dudek, 1985; Miller, 1998). Sin embargo, esta hipótesis ha sido poco estudiada y de modo que cuando se bloquea las conductancias de potasio, la concentración de Ca^{2+} se incrementa en el interior de la célula, debido a que los canales de Ca^{2+} que se encuentran en la terminal sináptica permanecen más tiempo abiertos (figura 7) (Barral, 2001).

Esta hipótesis nos indica que pequeñas modificaciones en la concentración de Ca^{2+} celular bastan para alterar sensiblemente la aparición espontánea de potenciales

miniatura, y por lo tanto liberación de neurotransmisor (Del-Castillo y Katz, 1954a; Del-Castillo y Katz, 1954b). Por lo tanto, cuando se mandan estímulos a intervalos cortos de tiempo se observa ya sea un progresivo incremento (facilitación, aumentación o potenciación), o bien un decremento en la amplitud de las respuestas sinápticas (depresión). Esto quiere decir que grandes cambios en la liberación de neurotransmisor pueden deberse a pequeños cambios en la concentración intracelular de Ca^{2+} seguida de un pulso nervioso (Barral et. al., 2001). Para el protocolo de facilitación por pulso pareado se mandan dos estímulos (S_1 y S_2), cercanos en el tiempo (10-200 ms) (figura 7C). La primera respuesta al primer estímulo es el componente S_1 (condicionante) y la segunda S_2 (condicionado) (Hernández-Echegaray et. al., 1998; Barral et. al., 2001).

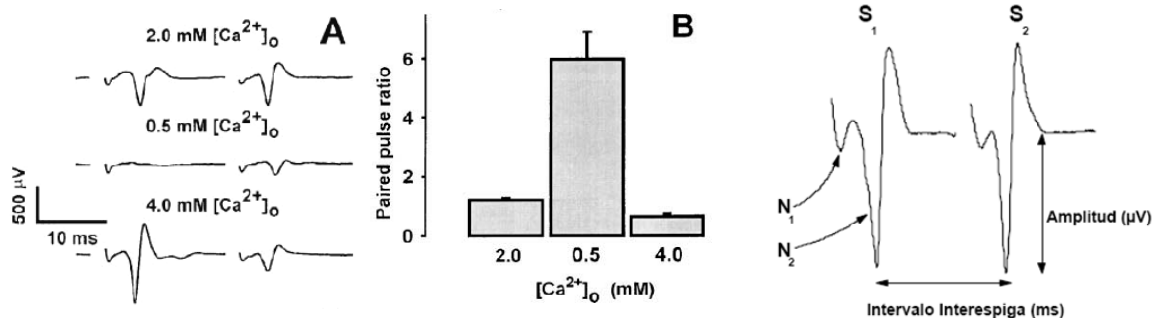


Figura 7. Componentes del registro extracelular de potenciales de campo mediante el protocolo por pulso pareado (FPP). A, principales trazos que muestran el efecto a diferentes concentraciones de Ca^{2+} extracelular. B, se muestra el radio por pulso pareado a diferentes concentraciones de Ca^{2+} extracelular. A mayor $[\text{Ca}^{2+}]$ se produce DPP mismo que ocurre si se bloquean los canales de potasio presinápticos; tomados de Barral et al., 2001. C, dos negatividades (N_1 y N_2), la primera es en respuesta al potencial antidrómico que corresponde a la información que va del axón a las dendritas y que se aparece aproximadamente de 2 a 4 ms después del artefacto de estimulación. La segunda actividad corresponde al potencial sináptico que aparece a los 4 a 8 ms, y se obtiene cuando las aferentes corticales que llegan al árbol dendrítico o al soma de las neuronas estriatales generan un potencial postsináptico. Se muestran 2 registros (S_1 y S_2) separados por un intervalo de tiempo, para observar la FPP a través del cambio en las amplitudes de la espiga. (Tomado de Barral et al, 2001).

Los experimentos se realizaron en presencia de Bicuculina 10 μM , que es un bloqueador específico del receptor GABA_A , para eliminar el componente inhibitorio y obtener sólo el componente glutamatérgico (Nisenbaum *et. al.*, 1992; Bargas *et. al.*, 1998; Barral, 2001). En estas condiciones, la intensidad de los estímulos se ajustó para ver poca o ninguna facilitación ($S_2/S_1 \approx 1$) en el tiempo de registro durante el control. Esto permitió detectar los cambios provocados por la administración del agonista a los neuromoduladores, así como los cambios provocados por los bloqueadores de K^+ y determinar el cambio en la facilitación la cual se evaluó como el cociente entre la amplitud de la respuesta al segundo estímulo (S_2) entre la respuesta al primer estímulo (S_1):

$$PPF = \frac{S_2}{S_1} \quad \begin{array}{l} \text{Que expresado en porcentaje es:} \\ \text{Que expresado en porcentaje es:} \end{array} \quad \% PPF = \left(\frac{S_2}{S_1} - 1 \right) \times 100$$

Para buscar la actividad neuronal, se aplicaron dos estímulos con una intensidad inicial de 20 V, una duración de 0.1 ms y a una frecuencia de 0.5 Hz. Como el estriado no tiene un arreglo laminar, la posición de los electrodos fue diferente en cada registro obtenido. Una vez obtenido el registro se disminuyó la frecuencia del estímulo a 0.1 Hz para obtener un registro estable, por lo que a esta frecuencia de disparo se mantuvieron todos los experimentos realizados.

FÁRMACOS UTILIZADOS.

Para la realización del presente trabajo, se llevaron a cabo experimentos de oclusión farmacológica utilizando Bicuculina, antagonista GABA_A adquiridos de SIGMA (St Louis, Mo) y bloqueadores específicos de canales de potasio proporcionados por Alomone Labs (Tabla 2). Todos ellos se prepararon en soluciones stock y disueltos en la

solución salina, se administraron a la preparación a través del dispositivo de perfusión. Los bloqueadores específicos (toxinas) utilizados (ver tabla 5), provenientes de Alomone Labs se disolvieron previamente en solución salina y se administraron a través de un dispositivo de perfusión.

Tabla 5. Bloqueadores específicos utilizados para conocer que canales de K⁺ están presentes en la sinapsis corticoestriatal de la rata.

Bloqueador	Origen	Actividad de Bloqueo Específico	Concentración Recomendada	Referencias
rBeKm-1	<i>Mesobuthus eupeus</i>	Bloquea específicamente canales K ⁺ ERG1	IC ₅₀ de 3.3 nM	Korolkova et al., 2001
rCharybdotoxin	<i>Leiurus q. hebraeus</i>	Canales de K ⁺ dependientes de Ca ²⁺ y algunos dependientes de voltaje	10-100 nM	Roberts et al., 1986
E-4031	-----	Dependientes de voltaje (HERG)	100 nM – 1 μM	Zhou et al., 1998
rErgtoxin	<i>Centruroides noxius</i>	Potente bloqueador de canales K _v eter a go go (ERG)	IC ₅₀ de 16 nM	Bottiglieri et al., 2000
rHeteropodatoxin-2	<i>Heteropoda venatoria</i>	K _v 4	100-500 nM	Sanguinetti et al., 1997
rLq2	<i>Leiurus q. hebraeus</i>	Rectificador entrante K _{ir} 1 (ROMK1)	5 nM	Luchési et al., 1989; Lu y MacKinnon, 1997
Phrixotoxin-2	<i>Phrixotrichus auratus</i>	Bloquea específicamente y reversiblemente los canales K _v 4.2 y K _v 4.3	IC ₅₀ de 34 y 71 nM respectivamente	Hille, 2001
rSlotoxin	<i>Centruroides noxius</i>	Dependientes de Ca ²⁺ de alta conductancia (BK)	10-100 nM	Garcia-Valdes et al., 2001
rTertiapin Q	<i>Apis mellifera</i>	K _{ir} 3.1/K _{ir} 3.4		Jin y Lu, 1998

ANÁLISIS DE DATOS.

Los cambios en la facilitación por pulso pareado se expresaron en porcentajes y se aplicaron pruebas estadísticas paramétricas (*t* de Student), utilizando el software comercial Minitab (State College, PA) (Brown y Rhotery, 1993; Daniel 2002) y SYSTAT (Evanston, IL, USA); y pruebas estadísticas no paramétricas (pruebas de Wilcoxon para datos apareados), antes y después de los tratamientos (Muñoz et. al., 1998). Sobre el mismo tejido se tomó el control y se realizó la experimentación. Los resultados se expresan como Media \pm S.E.M.

RESULTADOS.

La utilización de bloqueadores específicos y el paradigma experimental de estimulación por pulso pareado para determinar la presencia de los canales de potasio en las terminales sinápticas estriatales, entre ellos los canales dependientes de voltaje de la familia K_V11 , los dependientes de calcio y los rectificadores entrantes, arrojaron tres resultados diferentes, que se pueden resumir en aquellos canales que no están presentes en la sinapsis corticostriatal (los canales $K_V4.2$, $K_V4.3$, $K_{Ca1.1}$, $K_{Ca3.1}$ y $K_{ir1.1}$) aquellos canales que sí se encuentran presentes pero en la parte postsináptica (los canales K_V11), y aquellos canales que están presentes en la porción presináptica de la sinapsis corticostriatal (los canales BK_{Ca} y K_{ir3}).

A continuación se hace un análisis del efecto de los diversos bloqueadores que utilizamos en este trabajo sobre la facilitación por pulso pareado.

rHeteropodatoxina-2.

Para conocer si los canales dependientes de voltaje $K_V4.2$ se encontraban presentes en la terminal sináptica se utilizó un bloqueador específico para este canal llamado rHeteropodatoxina-2 (HTX-2), observando que tanto en la FPP (30 ± 33.65 % del control a 32.70 ± 34.09 % del experimental; $n = 2$, NS) como en la amplitud (1.32 ± 0.31 μV en el control a 1.32 ± 0.34 μV ; $n = 2$, NS) no hubo ninguna alteración (figura 8A).

Phrixotoxina-2.

Otro de los bloqueadores de los canales K_V4 es la Phrixotoxina-2 (PhTX-2), que tiene su efecto específicamente en dos subfamilias, $K_V4.2$ y $K_V4.3$. Esta toxina se aplicó al neocórtex para observar si provocaba algún efecto; sin embargo, la amplitud no se vio afectada siendo en el control de $1.10 \pm 0.13 \mu V$ y de $1.19 \pm 0.19 \mu V$ en la experimental; la FPP mostró un ligero cambio ya que pasó de $10.58 \pm 13.54 \%$ a $29.68 \pm 19.68 \%$ ($n = 3$) (figura 8B). Estos datos sugieren que la presencia de estos canales en la sinapsis corticoestriatal es nula, lo cual es consistente con lo reportado por Sanguinetti et al. (1990) y Serodio y Rudy (1998) que mencionan que la mayoría de los miembros de esta familia de canales se expresan principalmente en células del corazón.

rBeKm-1.

Los canales de K^+ de la subfamilia hERG1 ($hK_V11.1$) muestran una alta especificidad a ser bloqueados por la toxina rBeKm-1 (Spector et al.; Brass et al., 2002). Con el suministro de esta toxina no se observó un cambio notable en las amplitudes, ya que pasó de un control de $0.91 \pm 0.07 \mu V$ a un valor experimental $1.28 \pm 0.41 \mu V$; mientras que el porcentaje de FPP tuvo un aumento, del control de $-8.7 \pm 7.87 \%$ a $28.06 \pm 41.01 \%$ ($n = 2$) (figura 9C), por lo que se sugiere que estos canales no se encuentran en la terminal presináptica corticoestriatal y por lo tanto que la toxina podría estar actuando de manera indirecta.

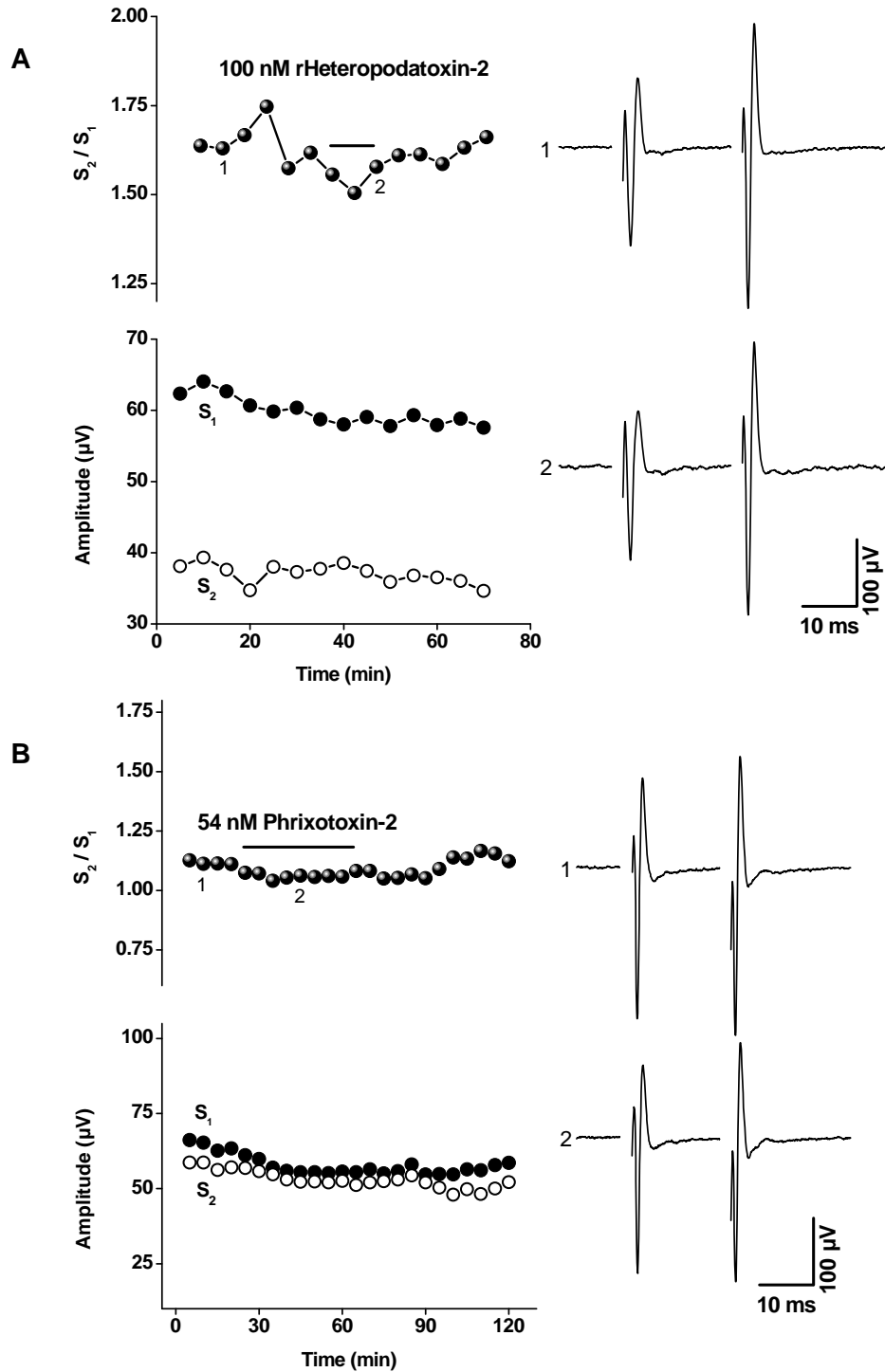


Figura 8. Experimentos utilizando bloqueadores específicos para la familia K_v4 . En A se utilizó rHeteropodatoxin-2 y en B se aplicó Phrixotoxin-2. En las gráficas de la derecha se observa el curso temporal de un experimento representativo, la barra indica el tiempo en que fueron administrados los bloqueadores y los números indican los puntos del experimento que fueron tomados para representar trazos representativos (a la izquierda) mostrando el control y parte del experimento. No se observa ningún cambio significativo en las amplitudes o en la FPP.

Ergtoxina-1.

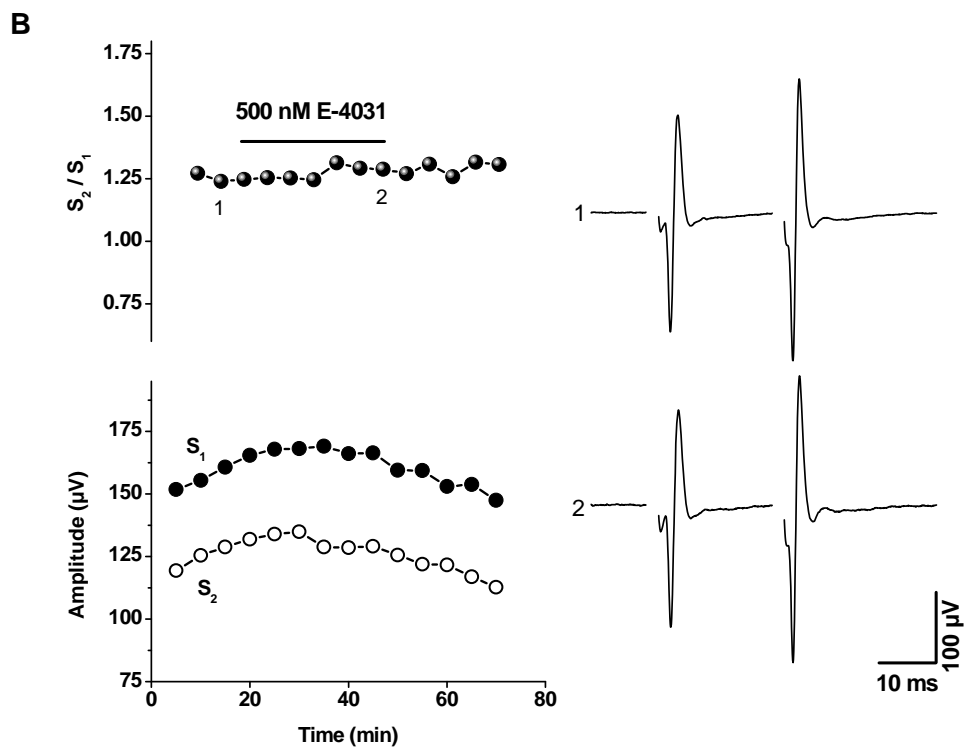
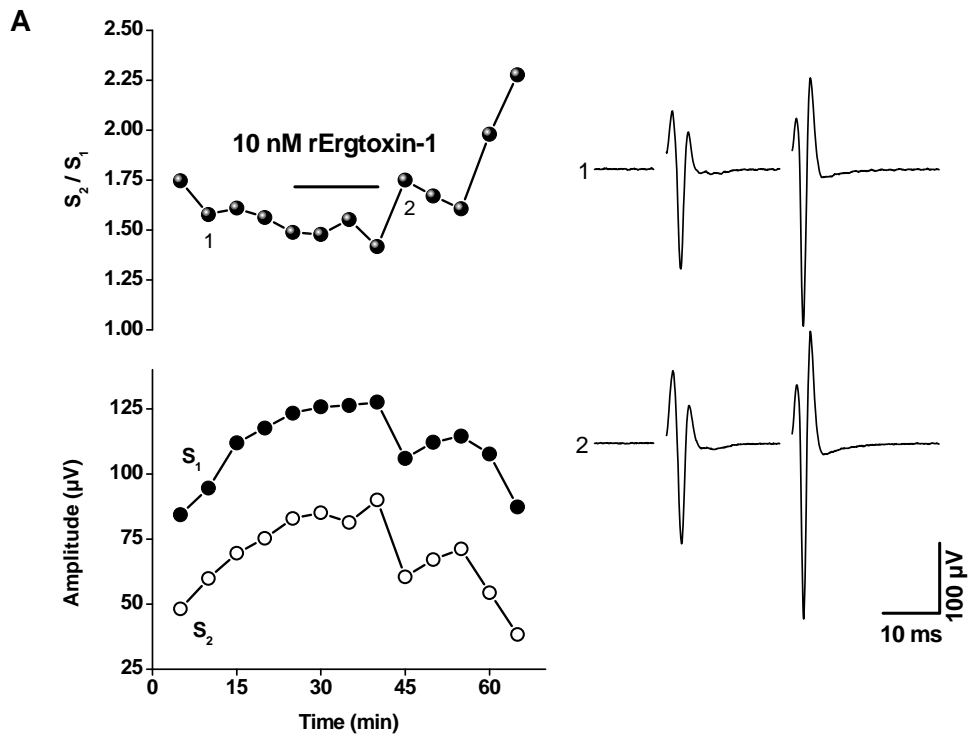
La Ergtoxina-1 (ErgTX) es un bloqueador que actúa sobre los canales de la familia K_v11 o ERG (Brass et al., 2002), los cuales se encuentran en diferentes tejidos y especies (Gurrola et al., 1999). Al aplicar la toxina a estos canales no se produjo cambio en las amplitudes de las respuestas sinápticas, que pasó de 1.59 a 1.55 μV , ni en el porcentaje de la FPP, que se mantuvo de 59.48 a 55.19 % ($n = 3$) (figura 9 A).

E-4031.

Para bloquear los canales de potasio hERG1 o $hK_v11.1$ se utilizó el bloqueador específico para estos, conocido como E-4031 (Wetter et al., 1991). El cual sorprendentemente mostró cambios en las amplitudes de las respuestas sinápticas, comenzando con un control de $12.28 \pm 10.91 \mu V$ y finalizando con un valor experimental de $1.35 \pm 0.13 \mu V$; esta disminución también puede apreciarse en el porcentaje de la facilitación por pulso pareado siendo en un inicio de $40.04 \pm 12.33 \%$ y obteniendo una depresión final de $35.83 \pm 13 \%$ ($n = 6$) (figura 9B).

rCharybdotoxina.

Al aplicar la rCharybdotoxina (ChTX), bloqueador específico de los canales dependientes de Ca^{2+} de larga conductancia (BK) no se observó ningún cambio en la relación de las amplitudes S_2/S_1 , ya que el control fue de $0.97 \pm 0.02 \mu V$ y el valor experimental fue de $0.98 \pm 0.01 \mu V$. En la FPP ocurrió lo mismo, el control comenzó



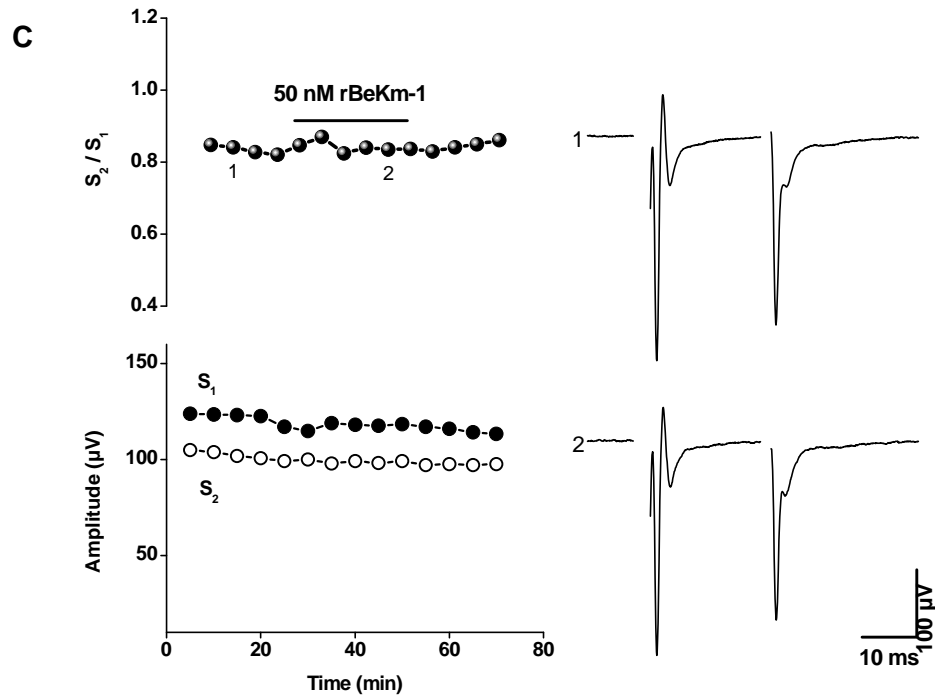


Figura 9. En A observamos el curso temporal de un experimento representativo al aplicar los bloqueadores específicos de los canales K_{v11} , rErgtoxin-1, E-4031 y rBeKm-1. La barra indica el tiempo en que fueron administrados los bloqueadores y los números señalan los puntos del experimento que fueron tomados para representar trazos representativos en B, mostrando el control y parte del experimento. En las dos primeras figuras se observa un ligero cambio en las amplitudes, pero sin ninguna modificación en la FPP.

ligeramente deprimido con un valor de $-2.66 \pm 2.69 \%$ y finalizó casi idéntico con un valor de $-1.41 \pm 1.69 \%$ ($n = 2$) (figura 10A).

rSlotoxina.

Por otra parte, la rSlotoxina (SloTX), otro bloqueador de los canales BK mostró resultados más notorios, por una lado, la amplitud fue de $1.64 \pm 0.2 \mu\text{V}$ a $3.1 \pm 0.7 \mu\text{V}$, por otro lado, la FPP cambió de un control de $64.08 \pm 20.91 \%$ a una facilitación de $200.39 \pm 75.89 \%$ ($n = 4$) (figura 10B), indicándonos su probable localización en la parte postsináptica o en otra terminal nerviosa.

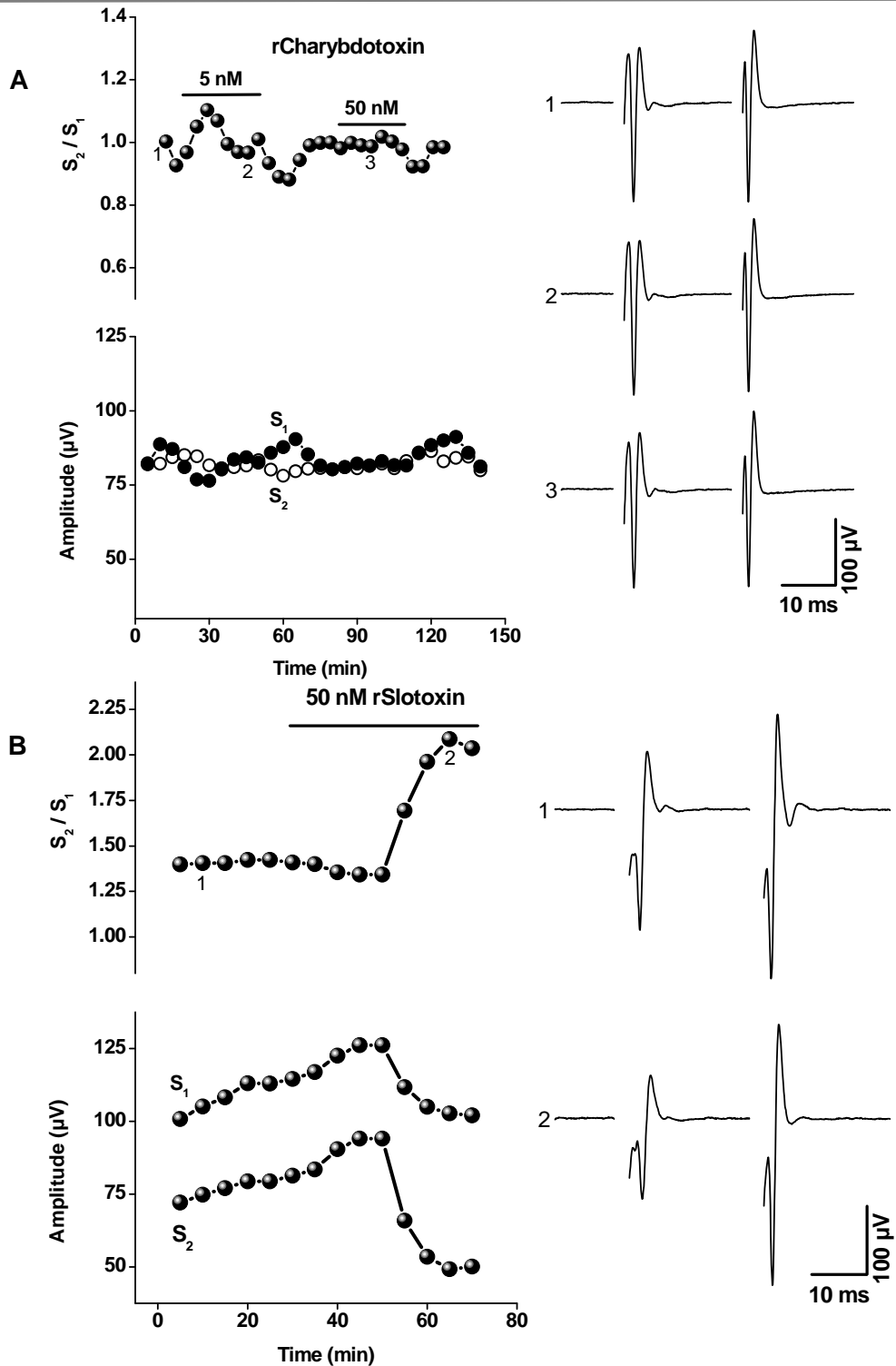


Figura 10. En A observamos el curso temporal de un experimento representativo al aplicar los bloqueadores específicos de los canales BK, rCharybdotoxin y rSlotoxin. La barra indica el tiempo en que fueron administrados los bloqueadores y los números señalan los puntos del experimento que fueron tomados para representar trazos representativos en B, mostrando el control y parte del experimento. En la gráfica superior no se reflejó ningún efecto, mientras que en la gráfica inferior observamos un aumento en la FPP.

rLq2.

La toxina rLq2, inhibe los canales ROMK1 o $K_{ir}1.1$ por el enlace de la estructura formado por la región del poro. Después de aplicar esta toxina a la rebanada de cerebro el cambio provocado en las amplitudes de las respuestas sinápticas fue mínimo de $1.9 \pm 0.18 \mu\text{V}$ en el control a $1.27 \pm 0.24 \mu\text{V}$ en el experimental $n= 4$, al igual que en la FPP, ya que pasó de $19.75 \pm 18.79 \%$ a $27.17 \pm 24.43 \%$ ($n = 4$) (figura 11A). Estos resultados también descartan la posibilidad de que los canales ROMK1 estén participando en la sinapsis, esto apoyado por Yano et al. (1994) que menciona que el riñón es el mayor sitio de expresión de esta subfamilia de canales de K^+ .

rTertiapin-Q.

Con la finalidad de comprobar si los canales de potasio rectificadores entrantes dependientes de proteína G se encontraban en la sinapsis corticoestriatal de la rata, se administró el bloqueador específico para los canales $K_{ir}3.1/K_{ir}3.4$, llamado rTertiapina-Q, el cual al contrario de lo reportado por Torres (2007) mostró un decremento en la relación de las amplitudes (de $1.75 \pm 0.33 \mu\text{V}$ a $1.25 \pm 0.15 \mu\text{V}$) y en el porcentaje de FPP que fue de $75.38 \pm 33.33 \%$ en el control a $25.62 \pm 15.97 \%$ ($n= 11$) (figura 11B). Anteriormente ya se conocía de la existencia de estos canales en el cerebro (Stoffel et al., 1994), pero con estos resultados podemos decir que algunos de los canales GIRK se encuentran en la terminal presináptica participando en la modulación de la misma.

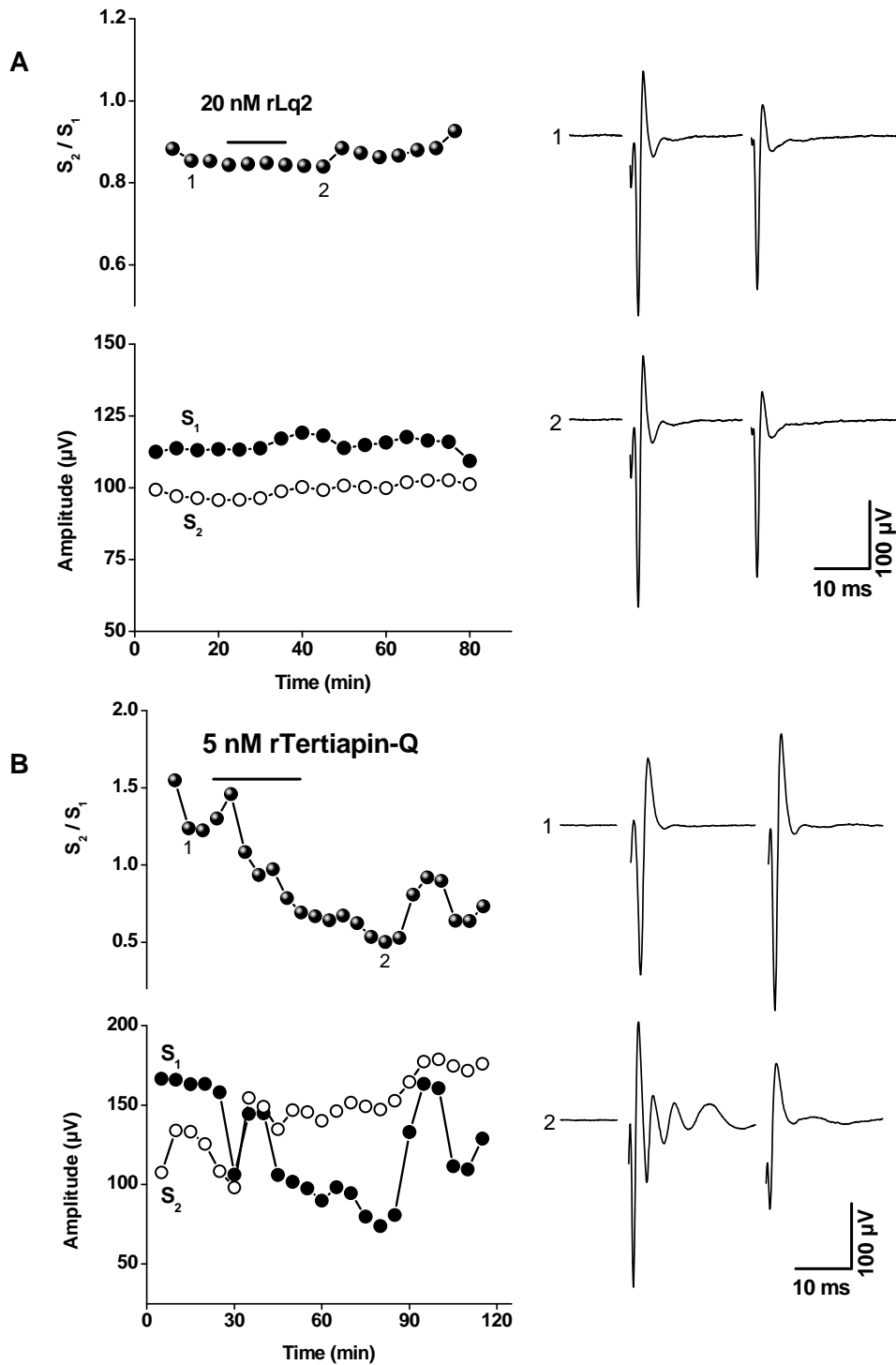


Figura 11. En A observamos el curso temporal de un experimento representativo al aplicar los bloqueadores específicos de los canales $K_{ir}1.1$ y GIRK, rLq2 y rTertiapin-Q respectivamente. La barra indica el tiempo en que fueron administrados los bloqueadores y los números señalan los puntos del experimento que fueron tomados para representar trazos representativos en B, mostrando el control y parte del experimento. En la figura superior los cambios son nulos tanto en la amplitud como en la FPP; mientras que en la figura inferior observamos una DPP.

DISCUSIÓN.

Con la ayuda del protocolo experimental por pulso pareado y la aplicación de bloqueadores específicos a preparaciones de neocórtex se pudo evidenciar el efecto (pre- o postsináptico) en las neuronas y con ello determinar si estaban presentes o no los canales de potasio dependientes de calcio y rectificadores anómalos en las terminales glutamatérgicas que van de la corteza al neocórtex de la rata. Este protocolo ha sido muy utilizado para detectar la presencia de diferentes estructuras presinápticas, ya que es posible manipular parámetros para que la evidencia sea más directa y clara.

CANALES K_v4 .

Las toxinas usadas para conocer si los canales K_v4 se encontraban en las terminales nerviosas del neocórtex no mostraron ningún efecto en el registro de campo, lo que concuerda con los reportes revisados acerca de este tipo de canales. rHeteropodatoxin-2 (veneno aislado de la araña *Heteropoda venatoria*) bloquea específicamente canales $K_v4.2$, que según Sanguinetti et al. (1997) se expresan fuertemente en el cerebelo y en hipocampo en el giro dentado y en las células piramidales de la región CA3 y CA1 de la rata; además de que participa en células del corazón prolongando los potenciales de acción y bloqueando la corriente de K^+ de salida transitoria en los miocitos ventriculares de la rata (Sanguinetti et al., 1997). El mecanismo de bloqueo de este canal por esta toxina no es conocido aún.

Por otro lado, Phrixotoxina-2 (péptido aislado del veneno de la tarántula *Phrixotrichus auratus*, encontrada en Chile) bloquea específica y reversiblemente dos

miembros de esta familia, los canales $K_v4.2$ y $K_v4.3$; que, de acuerdo a Serodio y Rudy (1998) están representados en varios tipos de neuronas centrales y periféricas, y abundantemente en el corazón, uniéndose esta toxina a estos canales con una alta afinidad en estado cerrado o inactivado, donde su diferente distribución, farmacología y cinética sugieren que son los constituyentes moleculares de la corriente de K^+ transitoria (Diochot et al., 1999).

También, Grissmer et al. (1994) ha observado que el mRNA del canal $K_v4.3$ está expresado en niveles significativos en miocitos cardíacos de rata, caninos y humanos; que las relaciones entre las cinéticas y la corriente de voltaje de los canales $K_v4.2$ y $K_v4.3$ son cercanas y que comparten similitudes farmacológicas como su insensibilidad al bloqueador TEA e inhibición por 4-AP. Además, Liss et al. (2001) afirma que en la sustancia nigra, las neuronas dopaminérgicas expresan canales $K_v4.3$, participando en el control de la actividad pacificadora intrínseca.

Estos datos al igual que nosotros no ubican los canales K_v4 en el neocórtex, sino principalmente en células del corazón.

CANALES K_v11 .

Para saber si los canales dependientes de voltaje K_v11 participaban en la sinapsis corticoestriatal se administraron 3 diferentes toxinas para bloquearlos (rBeKm-1, E-4031 y rErgtoxin-1), sin embargo, no hubo depresión del pulso pareado, sino únicamente una ligera modificación en las amplitudes de los potenciales. Esto puede deberse a algún mecanismo indirecto que actúa en la parte postsináptica.

La toxina rBeKm-1 (aislada del veneno del escorpión de Asia Central de la especie *Mesobuthus eupeus*) al igual que E-4031, bloquean canales hERG1 ($K_v11.1$) (Wetter et

al., 1991; Korolkova et al., 2001) y corrientes M en neuroblastoma de ratón diferenciado X células NG108-15 de glioma de rata (Filippov et al., 1996) rápida y reversiblemente, fenómeno que no ocurrió en nuestros experimentos. Si observamos la figura 9 podemos ver que de las tres toxinas aplicadas, la rBeKm-1 fue la que menos modificó las amplitudes; probablemente se deba a que esta toxina es una droga antiarrítmica que bloquea los canales KCNQ1 y los canales ERG (necesarios para la repolarización del potencial de acción) de las células del corazón humano (Spector et al., 1996).

rErgtoxin-1 (péptidos aislados del veneno del escorpión mexicano *Centruroides noxius*) (Gurrola et al., 1999), muestra una secuencia de aminoácidos diferentes significativamente de aquellas reportados previamente colocándolo en una nueva subfamilia de péptidos bloqueadores (Bottiglieri et al., 2000). La estructura primaria y aislada del péptido ergtoxina es completamente diferente de las otras 10 subfamilias de toxinas de escorpión conocidas (García et al., 1997). Esta toxina es específica para bloquear los canales de K^+ *éter-a-go-go* (ERG 1, 2, 3) que a diferencia de las otras toxinas incluye a las células nerviosas y endocrinas, además de las cardíacas (Gurrola et al., 1999) e incrementa el rango de disparo en neuronas así como también limita el potencial de acción cardíaco, y es incapaz de bloquear si el canal está cerrado y a otros canales de K^+ , incluyendo los más relacionados canales EAG.

Los genes relacionados con *éter-a-go-go* (*erg*) están bien expresados en el corazón (Curran et al., 1995), los ganglios simpáticos periféricos (Shi et al., 1997), cerebro (Wymore et al., 1997) y células tumorales, y codifican para un canal de K^+ ERG a medida que su corriente inusual muestra una forma similar aparentemente a la rectificación entrante de los canales rectificadores entrantes (2TM).

CANALES K_{Ca} .

Respecto a los canales de K^+ dependientes de Ca^{2+} , la respuesta se dividió; el potencial que no tuvo ningún efecto con charybdotoxin, y el que tuvo efecto, facilitando el potencial de campo con rSlotoxina.

Charybdotoxina (veneno del escorpión Israelí *Leiurus quinquestriatus hebraeus*) (Miller et al., 1985; Sugg et al., 1990), es un potente bloqueador específico de las subfamilias $K_{Ca1.1}$ y $K_{Ca3.1}$ (Brostein-Sitton, 2005a) y de varios tipos de canales K_V1 (Grissmer et al., 1994). Sugerimos dos posibles explicaciones por las cuales no hubo efecto en la facilitación del potencial de campo; que no estén presentes estos canales en la sinapsis corticoestriatal de la rata, o, como menciona Meera (2000) que en algunos canales Maxi K^+ de cerebro de mamíferos, son insensibles a la charybdotoxina, ya que las subunidades β pueden alterar la interacción en estudios bioquímicos y electrofisiológicos. Reinhart et al. (1989) apoya esta idea diciendo que existen neuronas con maxi canales sensibles e insensibles a charybdotoxina y que están presentes en las terminales nerviosas (Wang et al., 1992). Meera et al. (2000) y Meir (2003b) atribuyen este dramático efecto a que los bucles extracelulares de la subunidad β_4 bloquean o desbloquean la cinética con charybdotoxina. En cambio, charybdotoxina inhibe el flujo de K^+ dependiente de Ca^{2+} de los eritrocitos humanos (Brostein-Sitton, 2005b) y en ensayos de bicapa plana del músculo de rata los canales sencillos $K(Ca)$ (Meera et al., 2000).

Recomendamos hacer más pruebas con esta toxina para descartar totalmente que no esté presente en la sinapsis estudiada en este trabajo, en caso contrario, $K_{Ca1.1}$ actuaría en el cerebro como mecanismo de fuga de emergencia en situaciones que involucran despolarización excesiva y entrada de calcio en situaciones patológicas tales como la isquemia o epilepsia (Calderone, 2002).

Caso opuesto a la charybdotoxina es el cambio de la facilitación provocado por rSloToxina (obtenido del veneno del escorpión *Centruroides noxius*); este es un bloqueador que actúa bloqueando los canales Maxi BK_{Ca}, o Slo, KCNMA1 o K_{Ca}1.1 (Bogin, 2005); SloTx tiene una superficie que está cargada positivamente, y es similar a IbTx y ChTx, que interactúan con la subunidad α que forma el poro del canal MaxiK para bloquear el poro vía reacción bimolecular (Meera et al., 2000). De acuerdo a Garcia-Valdes (2001) una vez bloqueado el canal, la interacción de la toxina es aparentemente irreversible. SloTX es no sólo un potente y selectivo bloqueador, sino que además inhibe diferencialmente canales BK_{Ca}, dependiendo de la presencia de subunidades β y de las variantes de empalme con la subunidad α .

La iberiotoxina es otra toxina de escorpión que es muy selectiva a inhibir los canales BK_{Ca} (Meir, 2003b), la cual mostró incremento en la transmisión sináptica y redujo la facilitación por pulso pareado en estudios realizados por Torres (2007), lo que es consistente con el efecto visto de SloTX en las amplitudes del potencial sináptico. Esto indica que hubo una mayor probabilidad de liberación del transmisor por los canales BK, ya que uno de los objetivos de los canales BK es activar zonas en la terminal del nervio presináptico para limitar la entrada de calcio y liberar el neurotransmisor reduciendo la duración de la espiga en las terminales nerviosas neurosecretoras; por lo que, el incremento en la facilitación al bloquear los canales BK produce un incremento de la liberación del neurotransmisor y por ende una mayor liberación de calcio incrementando la eficacia sináptica en las neuronas (Raffaelli et al., 2004). Hu et al., 2001 menciona también, que los canales presinápticos BK pueden servir como freno de emergencia, protegiendo contra la hiperactividad, excitotoxicidad y muerte celular bajo condiciones patológicas.

En las neuronas, los canales BK_{Ca} han sido localizados en el cuerpo celular y las terminales nerviosas (Knaus et al., 1996) y pueden localizarse funcionalmente con los canales Ca²⁺ en las terminales presinápticas (Robitaille et al., 1993). En las neuronas, los canales subyacen la hiperpolarización rápida (AHP) que contribuye a ajustar el potencial de membrana durante el potencial de acción (Storm, 1987; Ashcroft, 1999). En las terminales presinápticas, los canales influyen la transmisión sináptica por hiperpolarización de la membrana, de ese modo limita el flujo de calcio (Storm, 1987). Los canales son potencialmente modulados por la fosforilación reversible de proteínas (Liu et al., 2004).

CANALES K_{ir}.

Resultados similares a los vistos en los canales dependientes de calcio se observaron en los experimentos de los canales rectificadores entrantes. Mientras que rLq2 no produjo ninguna modificación en la relación de la facilitación, rTertiapina-Q deprimió esta respuesta. Lq2 (toxina obtenida del veneno del escorpión *Leiurus quinquestriatus hebraeus*) es un bloqueador que especifica y potentemente inhibe los canales ROMK1, el nombre de estos canales se basa en su localización, ya que se encuentran en el riñón (Coetzee et al., 1999). Estos canales se involucran en el proceso electrolítico en el riñón y sirven para regular el reciclamiento del K⁺ en el túbulo ascendente del asa de Henle y media la secreción en la nefrona distal (Abraham et al., 1999). Además, este canal se expresa en el cerebro principalmente en la corteza y en el hipocampo (Kenna et al., 1994).

En el caso opuesto la tertiapina (obtenida del veneno de la abeja *Apis mellifera*), bloquea un rango de canales de K⁺ rectificadores entrantes (K_{ir}) en particular el ROMK1

(K_{ir}1.1) y GIRK (de la familia K_{ir}3, heterómero K_{ir}3.1/3.4), pero sin ningún efecto en los miembros de la familia K_{ir}2.

Los canales de potasio rectificadores entrantes dependientes de proteína G (GIRK) están acoplados a numerosos receptores de neurotransmisores en el cerebro y pueden involucrarse en roles importantes en funciones de modulación neuronal dependiendo de su localización en determinada neurona (Ashcroft, 1999). Ponce et al. (1996) ha reportado que se han encontrado en el soma y en las dendritas, donde los canales GIRK pueden mediar la inhibición postsináptica, y que las proteínas GIRK1 se encontraron en los axones y campos terminales de las neuronas, sugiriendo que los canales GIRK pueden estar participando en los eventos de modulación presináptica.

Otra de las subfamilias de los canales rectificadores entrantes que se sabe que están presentes en el estriado son los K_{ir} 2.1 y los K_{ir}2.3 que se han visto en cultivos de neuronas estriatales de rata (Falk et al., 2006), siendo que los K_{ir}2.1 (Kubo et al., 1993) son más prominentes que los K_{ir}2.3 (Falk et al., 1995). Además, Prüss et al. (2003) menciona que todas las subunidades de la familia K_{ir}2 fueron detectadas en el soma y en las dendritas de la mayoría de las neuronas estriatales. Sin embargo, la distribución de dos de ellas no es homogénea, ya que la proteína K_{ir}2.3 estuvo enormemente desprovista en las áreas de parches del estriado, y la subunidad K_{ir}2.4 es la más prominentemente expresada en las interneuronas colinérgicas gigantes del estriado (Scherer et al., 2007). Estas dos estructuras están alrededor de los jugadores clave en la regulación de la neurotransmisión dopaminérgica y colinérgica dentro del estriado y por lo tanto son las más importantes salidas de los ganglios basales.

CONCLUSIONES.

- De este trabajo se desprende que los canales de K^+ : $K_{ir}1.1$, $K_v4.2$ y $K_v4.3$ no están presentes en la sinapsis corticostriatal de la rata.
- Los canales $K_v11.1$ se encuentran en la parte postsináptica de la sinapsis corticoestriatal del neocórtex, ya que sólo se vio cambio en las amplitudes y no en su facilitación.
- Los canales de K^+ dependientes de calcio tipo BK se encuentran en esta sinapsis, pero al parecer su efecto es indirecto pues en lugar de producir Depresión por Pulso Pareado, lo que se observó fue un incremento en la Facilitación por Pulso Pareado.
- Los canales de K^+ rectificadores entrantes dependientes de proteína G GIRK1 están presentes en la sinapsis que estudiamos en este trabajo. Estos canales, así como los transitorios tipo A (José, 2005) y los de la familia K_v1 identificados previamente en el laboratorio (Torres, 2007), son los encargados de realizar la modulación presináptica por activación de canales de K^+ en la sinapsis corticostriatal de la rata, sin que esto descarte la presencia de otros canales en esta sinapsis.

L I T E R A T U R A C I T A D A .

- Abraham, M.R.; A. Jahangir; A.E. Alekseev y A. Terzic (1999). Channelopathies of inwardly rectifying potassium channels. *FASEB J.* 13, 1901.
- Alexander S.P.H.; A. Mathie y S.J.A. Peter (2004). Potassium channels, in *Guide to receptors and channels*. *Br. J. Pharmacol.* 141: 583-584, 153 (suppl 2): S1-S209.
- Ashcroft F.M. (1999). *Ion Channels and Disease. Channelopathies*. Academic Press. USA. 97-247.
- Andrew, R.D. y F.E. Dudek (1985). Spike broadening in magnocellular neuroendocrine cells of rat hypothalamic slices. *Brain Res.* 13, 1334(1): 176-179.
- Bargas, J.; G.X. Ayala; E. Hernández y E. Galarraga. (1998) Ca^{2+} -Channels involved in neostriatal glutamatergic transmission. *Brain Res. Bull.* 45: 521-524.
- Barral J. (2001). Modulación presináptica de las aferentes excitatorias glutamatérgicas al neostriado de la rata. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Barral, J.; Mendoza, E.; Galárraga, E. y Bargas, J. (2003) The presynaptic modulation of corticostriatal afferents by δ -opioids is mediated by K^+ conductances. *Eur. J. Pharmacol.* 462: 91-98.
- Bear M. F.; Connors B.W. y Paradiso M. A. (2001). *Neuroscience: Exploring the Brain*, Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins, pp 473-482.
- Bennett B.D. y J.P. Bolam (1993). Characterisation of calretininimmunoreactive neurones in the rat striatum. *Brain Res*, 609:137-148.
- Bennett, B.D. y J. P. Bolam (1994). Synaptic Input and Output of Parvalbumin Immunoreactive Neurons in the Neostriatum of the Rat. *Neuroscience Vol.* 62(3):707-719.
- Blankenship, J.E. (2003). *Neurophysiology*. Mosby, Inc. Philadelphia, Pennsylvania. pp 15-17, 50-57.

- Blank, T.; I. Nijholt; M.J. Kye y J. Spiess (2004) Small conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels as targets of CNS drug development. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 3(3):161-7.
- Bogin O. (2005). Venom Peptides and their Mimetics as Potential Drugs. *Modulator* 19: 14-20.
- Bogin O. (2006). Venom Toxins as Ion Channels Research Tools. *Modulator* 21:28-31.
- Bolam, J.P. y B.D. Bennett (1995). Microcircuitry of the neostriatum. *Molecular and Cellular Mechanisms of Neostriatal Function*. Edited by Ariano M.A. y D.J. Surmeier. Austin: RG Landes Company. 1-20.
- Bolam, J.O.; J.J. Hanley; A.C. Booth y M.D. Bevan (2000). Synaptic organization of the basal ganglia. *J. Anat.* 196, 527-542.
- Bottiglieri C.; L. Ferrara; M. Corona; G.B. Gurrola; C. Batista; E. Wanke y L.D. Possani (2000). Disulfide bridges of Ergtoxin a member of a new sub-family of peptide blockers of the *ether-a-go-go*-related K^+ channel. *FEBS Letters* 479, 155-157.
- Brass D.; B. Pharm y A. Meir (2002). ERG K^+ Channels. *Modulator* 16:25-29.
- Brostein-Sitton, N. (2005a). Ion Channels and Epithelial Tissue Function. *Modulator* 19:2-8.
- Brostein-Sitton, N. (2005b). Ca^{2+} -Dependent K^+ (KCa) Channels: At the Crossroads of Cell Metabolism. *Modulator* 20:10-14.
- Brown D. y P. Rothery (1993). *Statistical Methods for comparing biological populations and processes. Model in Biology: mathematics, statistics and computing*. The bath press, Avon Great Britain. Pp. 199-235.
- Buckingham, S.D.; J.F. Kidd; R.J. Law; C.J. Franks y D.B. Sattelle (2005). Structure and function of two-pore-domain KC channels: contributions from genetic model organisms. *TRENDS in Pharmacological Science*.
- Byrne, J.H. y J.L. Roberts (2004). *From Molecules to Networks: An Introduction to cellular and molecular neuroscience*. Elsevier Academic Press. China. pp 141-160, 245-250.

- Calabresi P.; Pisani A.; Mercuri N.B. y Bernardi G. (1996). The corticostriatal projection: from synaptic plasticity to dysfunctions of the basal ganglia. *Trends Neurosci.* 19, 19-24.
- Calderone V. (2002). Large-Conductance, Ca^{2+} -Activated K^+ Channels: Function, Pharmacology and Drugs. *Curr.Med.Chem.* 9(14):1385.
- Chang H.T.; C.J. Wilson y S.T. Kitai (1982). A Golgi study of rat neostriatal neurons: light microscopic analysis. *J Comp Neurol.* 20; 208(2):107-26.
- Chang, H.T. y H. Kita (1992). Interneurons in the rat striatum: relationships between parvalbumin neurons and cholinergic neurons. *Brain Research*, 574: 307-311.
- Choe, S. (2002). Potassium channel structures. *Nature Reviews Neuroscience* 3:115-121.
- Chuang H.H.; Y.N. Jan y L.Y. Jan (1997). Regulation of IRK3 inward rectifier K^+ channel by M1 acetylcholine receptors and intracellular magnesium. *Cell.* 89: 1121-1132.
- Coetzee W.A., Y. Amarillo; J. Chiu; A. Chow; D. Lau; T. McCormack; H. Moreno; M.S. Nadal; A. Ozaita; D. Poutney; M. Saganich; E. Vega-Saenz de Miera y B. Rudy (1999). Molecular Diversity of K^+ Channels. *Annal New York Academic of Science.* 233-285.
- Curran M.E.; I. Splawski; T. Paquette; B.I. Sasyniuk y A. Shrier (1995). A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell.* 80:795-803.
- Daniel W. W. (2002). Estadística no paramétrica y de libre distribución. *Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud.* 4ª ed. Limusa Wiley. pp. 658-737.
- Del-Castillo, J. y B. Katz (1954a) Quantal components of the end-plate potential. *J. Physiol.* 124:560-573.
- Del-Castillo, J. y B. Katz (1954b) Statistical factors involved in neuromuscular facilitation and depression. *J. Physiol.* 124:574-585.
- Diochot S.; M.D. Drici; D. Moinier; M. Fink y M. Lazdunski (1999). Effects of picrotoxins on the K_v4 family of potassium channels and implications for the role of Ito1 in cardiac electrogenesis. *British Journal of Pharmacology* 126:251-263.

- Dodson, P.D. y Forsythe I.D. (2004). Presynaptic K⁺ channels: electrifying regulators of synaptic terminal excitability. *TRENDS in Neuroscience* 27(4) 220-217.
- Doyle D.A.; J.M. Cabral; R.A. Pfuetzner; A. Kuo; J.M. Gulbis; S.L. Cohen; B.T. Chait y R. MacKinnon (1998). The Structure of the Potassium Channel: Molecular Basis of K⁺ Conduction and Selectivity. *Science* 280:69-76.
- Dunwiddie, T.V. y H.L. Haas (1985). Adenosine increases synaptic facilitation in the in vitro rat hippocampus: evidence of a presynaptic site of action. *J. Physiol.* 369, 365-377.
- Eliot L.S.; E.R. Kandel; S.A. Siegelbaum y H. Blumenfeld (1993). Imaging terminals of Aplysia sensory neurons demonstrates role of enhanced Ca influx in presynaptic facilitation. *Nature.* 316: 634-37.
- Engelman, H.S. y A.B. MacDermott (2004). Presynaptic ionotropic receptors and control of transmitter release. *Nature Reviews* 5, 135-145.
- Falk T.; W. Meyerhof; B.J. Corrette; J. Schafer; C.K. Bauer; J.R. Schwarz y D. Richter (1995). Cloning, functional expression and mRNA distribution of an inwardly potassium channel protein. *FEBS Lett.* 367:127-131.
- Falk T.; S. Zhang; E.L. Erbe y S.J. Sherman (2006). Neurochemical and Electrophysiological Characteristics of Rat Striatal Neurons in Primary Culture. *The Journal of Comparative Neurology* 494:275-289.
- Filippov A.K.; S.A. Kozloz; K.A. Pluzhnicov; E.V. Grishin y D.A. Brown (1996). M-type K⁺ current inhibition by a toxin from the scorpion *Buthus eupeus*. *FEBS Letters* 384, 277-280.
- García M.L.; M. Hanner; H.G. Knaus; R. Koch; W. Schmalhofer; R.S. Sluaghter y G.J. Kaczorowski (1997). Pharmacology of potassium channels. *Adv. Pharmacol.* 39, 426-471.
- Garcia-Valdes J.; F.Z. Zamudio; L. Toro y L.D. Possani (2001). Slotoxin, α KTx1.1, a new scorpion peptide blocker of MaxiK channels that differentiates between α and α + β (β 1 or β 4) complexes. *FEBS Letters* 505:369-373.

- Gazzaniga M.S.; R.B. Ivry y G.R. Mangun (1998) *Cognitive Neuroscience. The Biology of the Mind*. W.W. Northon&Company USA pp 42-44, 56-58, 375-378.
- Gohar, O. (2006). Ion Channel Modulation by G-Protein Coupled Receptors. *Modulator* 21:2-8.
- Graybiel, A.M. (1990). The basal ganglia and the initiation of the movement. *Rev. Neurol. (Paris)* 146:570-5744.
- Graybiel, A.M.; T. Aosaki; A.W. Flaherty y M. Kimura (1994). The basal ganglia and adaptative motor control. *Science* 265: 1826-1831.
- Grissmer S.; A.N. Nguyen; J. Aiyar; D.C. Hanson; R.J. Mather; G.A. Gutman; M.J. Karmilowicz; D.D. Auperin y K.G. Chandy (1994). Pharmacological characterization of five cloned voltaje-gated K⁺ channels, K_v 1.1, 1.2, 1.3, 1.5 y 3.1 stably expressed in mammalian cell lines. *Mol. Pharmacol.* 45:1227-1234.
- Gurrola G.B.; B. Rosati; M. Rocchetti; G. Pimienta; A. Zaza; A. Arcangeli; M. Olivotto; L.D. Possani y E. Wanke (1999). A toxin to nervous, cardiac, and endocrine ERG K⁺ channels isolated from *Centruroides noxius* scorpion venom. *FASEB J.* 13,953-962.
- Gutman, G.A.; K. G. Chandy; J. P. Adelman; J. Aiyar; D. A. Bayliss; D. E. Clapham; M. Covarriubias; G. V. Desir; K. Furuichi; B.Ganetzky; M. L. Garcia; S. Grissmer; L. Y. Jan; A. Karschin; D. Kim; S. Kuperschmidt; Y. Kurachi; M.I. Lazdunski; F. Lesage; H. A. Lester; D. Mckinnon; C. G. Nichols; I. O'kelly; J. Robbins; G.A. Robertson; B. Rudy; M. Sanguinetti; S. Seino; W. Stuehmer; M. M. Tamkun; C. A. Vandenberg; A. Wei; H. Wulff; y R. S. Wymore (2003). *International Union of Pharmacology. XLI. Compendium of Voltage-Gated Ion Channels: Potassium Channels. Pharmacol. Rev.* 55(4): 583-586.
- Hammond, C. (2001). *Cellular and Molecular Neurobiology* 2^a ed. Academic Press. San Diego California. pp 493.
- Hernández-Echegaray E.; E. Galarraga y J. Bargas (1998). 3- α -Chloroimperialine, a potent blocker of cholinergic presynaptic modulation of glutamatergic afferents in the rat neostriatum. *Neuropharmacology* 37:1493-1502.

- Hille B. 2001. Ion Channels of Excitable Membranes. Sunderland, MA: Sinauer.
- Hu H.; Shao L. R.; Chavoshy S.; Gu N.; Trieb M.; Behrens R.; Laake P.; Pongs O.; Knaus H. G.; Ottersen O. P. y Store J. F. (2001). Presynaptic Ca^{2+} -activated K^+ channels in glutamatergic hippocampal terminals and their role in spike repolarization and regulation of transmitter release. *J. Neurosci* 21: 9585-9597.
- Isaacson, J.S. y B. Wamsley (1995). Counting Quanta: Direct Measurements of Transmitter Release at a Central Synapse. *Neuron* 15:875-884.
- Jin W. y Z. Lu (1998). A Novel High-Affinity Inhibitor for Inward-Rectifier K^+ Channels. *Biochemistry* 37:13291-13299.
- Jonas E.A. y Kaczmarek L.K. (1996). Regulation of potassium channels by protein kinases. *Current Opinion Neurobiology*. 6:318-323.
- José, X. (2005). Identificación de los canales de potasio presentes en las terminales glutamatérgicas de la sinapsis cortico-estriatal de la rata. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM.
- José, X.; J.C. Pineda; C. Rodríguez; E. Mendoza; E. Galarraga; J. Bargas y J. Barral (2007). □ Opioids reduce the neurotransmitter release probability by enhancing transient (KV4) K^+ -currents in corticoestriatal synapses as evaluated by paired pulse protocol. *Neuroscience Letters* 414:150-154.
- Kandel, E.R.; J.H. Schwartz y T.M. Jessell (2000). Principles of Neural Science. 4a Ed. McGraw-Hill USA. pp 175-298.
- Katz, B. y R. Miledi (1968). The role of calcium in neuromuscular facilitation. *J. Physiol.* 195:481-492.
- Katz, B. y R. Miledi (1970). Further study of the role of calcium in synaptic transmission. *J. Physiol. (London)* 207: 789-801.
- Kawaguchi, T. (1993). Physiological, morphological and histochemical characterization of three classes of interneurons in the rat neostriatum. *J. Neurosci.* 13: 4908-4923.

- Kenna, S.; J. Röper; K. Ho; S. Herbert; S.J. Ashcroft y F.M. Ashcroft (1994). Differential expression of the inwardly-rectifying K-channel ROMK1 in the rat brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 24(1-4):353-256.
- Knaus H.G.; C. Schwarzer; R.O. Koch; A. Eberhart; G.J. Kaczoroski; H. Gloosmann; F. Hunder; O. Pongs; M.L. García y G. Sperk (1996). Distribution of high-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel in rat brain: targeting to axons and nerve terminals. *J Neurosci* 16:955-963.
- Korolkova Y.V.; S.A. Kozlov; A.V. Lipkin; K.A. Pluzhnikov; J.K. Hadley; A.K. Filippov; D.A. Brown; K. Angelo; D. Strobaek; T. Jespersen; S. Olesen; B.S. Jensen y E.V. Grishin (2001). An ERG Channel Inhibitor from the Scorpion *Buthus eupeus*. *The Journal of Biochemical Chemistry* 276(13):9868-9876.
- Kubo Y.; T.J. Baldwin; Y.N. Yan y L.N. Yan (1993). Primary structure and functional expression of a mouse inward rectifier potassium channel. *Nature* 362:127-133.
- Levitan, I.B. (1994). Modulation of Ion channels by protein phosphorylation and dephosphorylation. *Ann. Rev. Physiol.* 56: 193-212.
- Liss B., O. Franz; S. Sewing; R. Bruns; H. Neuhoff y J. Roeper (2001). Tuning pacemaker frequency of individual dopaminergic neurons by $\text{K}_{\text{v}}4.3\text{L}$ and $\text{KChip}3.1$ transcription. *EMBO J.* 20:5715-5724.
- Liu G.; J. L. Shi; L. Yang; S. Cao; M. Park; J.Cui y S. O. Marx (2004). Assembly of a Ca^{2+} -dependent BK channel signaling complex by binding to β_2 adrenergic receptor. *The EMBO Journal* 23:2196–2205.
- Lovinger, D.M. y E. Tyler (1996). Synaptic transmission and modulation in the neostriatum. *Int. Rev. Neurobiol.* 39:77-111.
- Lucchesi K.; A. Ravindran; H. Young y E. Moczydlowski (1989). Analysis of the blocking activity of charybdotoxin homologs and iodinated derivatives Ca^{2+} -activated K^+ channels. *J. Membr Biol.* 109(3):269-281.
- Lu Z. y R. MacKinnon (1997). Purification, Characterization, and Synthesis of an Inward-Rectifier K^+ Channel Inhibitor from Scorpion Venom. *Biochemistry* 36:6936-6940.

- Marín O.; W.J.A.J. Smeets y González, A. (1998). Evolution of the basal ganglia in tetrapods: a new perspective based on recent studies in amphibians. *Trends Neurosci* 21:487-494.
- Markram H.; M. Toledo-Rodríguez; Y. Wang; A. Gupta; G. Silberberg y C. Wu (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system 5:793-807.
- Matthews, G.G. (2003). *Cellular Physiology of Nerve and Muscle* 4a ed. Blackwell Publishing. New York, USA. pp 235.
- Meir A.; S. Ginsburg; A. Butkevich; S.G. Kachalsky; I. Kaiserman; R.; Ahdut S. Demirgoren y R. Rahamimoff (1999). Ion Channels in Presynaptic Nerve Terminals and Control of Transmitter Release. 70(3): 1019-1064.
- Meir A. (2003a). Voltage-Dependent K⁺ (KV) Channels: A Large and Diverse Family of Membrane Voltage Regulators. *Modulator* 17:13-17.
- Meir A. (2003b). Large Conductance Ca²⁺-Dependent K⁺ (BKCa) Channels. Target for Several Pharmacological Compounds. *Modulator* 17:10-11.
- Meera P., M. Wallner, y L. Toro (2000). A neuronal α subunit (KCNMB4) makes the large conductance, voltage- and Ca²⁺-activated K⁺ channel resistant to charybdotoxin and iberiotoxin. *Pro. Natl. Cad. Sci.* 97(10):5562-5567.
- Mennerick S. y C.F. Zorumski (1995). Paired-pulse modulation of fast excitatory synaptic currents in microcultures of rat hippocampal neurons. *Journal of Physiology* 488.1:85-101.
- Miller C.; E. Moczydlowski; R. Latorre y M. Phillips (1985). Charybdotoxin, a protein inhibitor of single Ca²⁺-activated K⁺ channels from mammalian skeletal muscle. *Nature* 24-30:313(6000):316-318.
- Miller, C. (1995). The Charybdotoxin Family of K⁺ Channel-Blocking Peptides. *Neurona*, 15:5-10.
- Miller, R.J. (1998). Presynaptic receptors. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38:201-227.
- Muñoz, E.J. y X. Garcia (1998). Los ganglios basales. En: *Fisiología, células, órganos y sistemas*. Vol. 5 Cap X.13. (Eds.). FCE México. pp 257-273.

- Nicholls J.G.; A.R. Martin; B.G. Wallace y P.A. Fuchs (2001). *From Neuron to Brain* 4a ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts USA. pp 15-17, 50-57, 155-162, 180-182, 473-475.
- Nisenbaum E. S.; T. W. Berger y A. A. Grace (1992). Presynaptic modulation by GABAB receptors of glutamatergic excitation and GABAergic inhibition of neostriatal neurons. *J Physiol.* 67 (2):477- 481.
- Papazian D.M. (1999). Potassium Channels: Some Assembly Required. *Neuron* 23:7-10.
- Ponce A.; E. Bueno; C. Kentros; E. Vega-Saenz de Miera A., Chow D., Hillman S., Chen L., Zhu M. B., Wu X., Wu B. Rudy y W. B. Thornhill (1996). G-Protein-Gated Inward Rectifier K⁺ Channel Proteins (GIRK1) are present in the soma and dendrites as well as in nerve terminals of specific neurons in the brain. *J. Neuroscience.* 16 (6): 1990-2001.
- Prüss H.; M. Wenzela; D. Eulitza y Achim (2003). K_{ir}2 potassium channels in rat striatum are strategically localized to control basal ganglia function *Molecular Brain Research* 110 203–219.
- Purves D.; A. George; J. Fitzpatrick; D. Katz; L.C., LaMantia Anthony-Samuel, McNamara James O. (2001). *Invitación a la Neurociencia.* Editorial Medica Panamericana. Argentina. Pp 61, 93-97, 359-378.
- Qian J. y P. Saggau (1999). Activity-dependent modulation of K⁺ currents at presynaptic terminals of mammalian central synapses. *Journal of Physiology* 519(2):427-437.
- Raffaelli G.; C. Saviane; M.H. Mohajerani; P. Pedarzani y E. Cherubini (2004). BK potassium channels control transmitter release at CA3-CA3 synapses in the rat hippocampus. *J. Physiol* 557.1, 147-157.
- Reiner A.; L., Medina y C.L. Veenman (1998) Structural and functional evolution of the basal ganglia in vertebrates. *Brain Research Reviews* 28, 235-285.
- Reinhart P.H.; S. Chung e I.B. Levitan (1989). A family of calcium-dependent potassium channels from rat brain. *Neuron* 2(1):1031-1041.

- Roberts W.M.; W. Stühmer; R.E. Weiss; P.R. Stanfield y W. Almes (1986). Distribution and mobility of voltage-gated channels in skeletal muscle. ANN. N.Y. Acad. Sci. 479:377-384.
- Robitaille R.; M.L. García; G.J. Kaczorowsky y M.P. Charlton (1993). Functional colocalization of calcium and calcium-gated potassium channels in control of transmitter release. Neuron 11:645-655.
- Roeper J y Pongs O. (1996). Presynaptic potassium channels. Current Opinion in Neurobiology. 6:338-341.
- Rosenzweig, M.R., S.M. Breedlove, y N.V. Watson (2005). Biological Psychology an Introduction to Behavioral and Cognitive Neuroscience 4a ed. Sinauer Associates Publishers. Sunderland Massachusetts USA. pp 29, 54-56, 69-70, 78-83.
- Rymar V.V.; R. Sasseville; K.C. Luk y A.S. Sadikot (2004). Neurogenesis and stereological morphometry of calretinin-immunoreactive interneurons of the neostriatum. J Comp Neurol 469:325-339.
- Samson S.P.; I.H. Shivastava; J.N. Brigh; J. Tate; C.E. Carpenter y P.C. Biggin (2002). Potassium channel: structures, models, simulations. Biochimica et Biophysica Acta 1565, 294-307.
- Sanguinetti M.C. y N.K. Jurkiewicz (1990). Two components of cardiac delayed rectifier K⁺ current. J.Gen. Physiol. 96:195-215.
- Sanguinetti M.C., J.H. Johnson, L.G. Hammerland, P.R. Volkman, N.A. Saccomano y A.L. Mueller (1997). Heteropodatoxins: peptides isolated from spider venom that block KV4.2 potassium channel. Mol Pharmacol., 51, 491-498.
- Scherer D.; C. Kiesecker; M. Kulzer; M. Günth; E. P. Scholz; S. Kathöfer; D. Thomas; M. Maurer; J. Kreuzer; A. Bauer; H. A. Katus; C.A. Karle y E. Zitron (2007). Activation of inwardly rectifying Kir2.x potassium channels by β 3-adrenoceptors is mediated via different signaling pathways with a predominant role of PKC for Kir2.1 and of PKA for Kir2.2. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 375:311–322

- Serodio P. y B. Rudy (1998). Differential expression of KV4 K channel subunits mediating subthreshold transient K (A-type) currents in rat brain. *J. Neurophysiol.*, 79:1081-1091.
- Shi W., R.S. Wymore, H.S. Wang, Z. Pan, I.S. Cohen, D. McKinnon y J.E. Dixon (1997). Identification of two nervous system-specific members of the erg potassium channel gene family. *J. Neurosci.* 17:9423-9432.
- Siegel G.J.; R.W. Alberts; S.T. Brady y D.L. Price (2006). *Basic Neurochemistry Molecular, Celular and Medical Aspects 7a ed.* Elsevier Academic Press. Canada. pp 167-168, 761-766.
- Smith, A.D. y Bolam, J.P. (1990). The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *Trends Neurosci* 13(7):259-65.
- Smith Y.; M.D. Devan; E, Shink y J.P Bolam. (1998) Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience* 86:353-387.
- Spector P.S.; M.E. Curran; M.T. Keating y N.C. Sanguinetti (1996). Class III Antiarrhythmic Drugs Block HERG, a Human Cardiac Delayed Rectifier K⁺ Channel. Open-Channel Block by Methanesulfonamides. *Circ. Res.* 78:499-503.
- Stoffel M.; R. Espinosa III; K.L. Powell; L.H. Philipson; M.M. Le Beau y G.I. Bell (1994). Human G-Protein-Coupled Inwardly Rectifying Potassium Channel (GIRK1) Gene (KNCJ3): Localization to Chromosome 2 and Identification of a Simple Tandem Repeat Polymorphism. *Genomics* 21:254-256.
- Storm J.F. (1987). Intracellular injection of a Ca²⁺ chelator inhibits spike repolarization in hippocampal neurons. *Brain Res* 435:387-392.
- Sugg E.E.; M.L. García; J.P. Reuben; A.A. Patchett y G.J. Kaczorowski (1990). Synthesis and Structural Characterization of Charybdotoxin, a Potent Peptidyl Inhibitor of the High Conductance Ca²⁺-activated K⁺ Channel. *The Journal of Biological Chemistry* 265(31):18745-18748.
- Tepper J.M. y J.P. Bolam (2004). Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Current Opinion in Neurobiology.* 14: 685-692.

- Tepper J.M.; V.J. Wilson y T. Koos (2007). Feedforward and feedback inhibition in neostriatal GABAergic spiny neurons.. Brain Research Reviews XX. Pp 1-10.
- Torres, F.M. (2007). Identificación de los canales de potasio presinápticos en la sinapsis cortico-estriatal de rata mediante el empleo de bloqueadores específicos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM.
- von Bohlen und Halbach O. y R. Dermietzel (2006). Neurotransmitters and Neuromodulators. Handbook of Receptors and Biological Effects, 2ª edición. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA. Weinheim, Alemania. pp 3-10, 38-40.
- Wetter E.; G. Scholtusik; A. Schaad; H. Himmel y U. Ravens (1991). Effects of the new class III antiarrhythmic drug E-4031 on myocardial contractility and electrophysiological parameters. J. Cardiovasc. Pharmacol. 17(3):480-487.
- Wilson C.J. (2004). The Basal Ganglia. En: The synaptic organization of the brain 5a ed. (Shepherd, ed). Oxford University Press. USA. 719 pp.
- Wu, L.G. y P. Saggau (1997) Presynaptic inhibition of elicited neurotransmitter release. TINS 20(5):204-212.
- Wymore R.S.; G.A. Gintant; R.T. Wymore; J.E. Dixon; D. McKinnon e I.S. Cohen (1997). Tissue, and species distribution of mRNA for the I_{Kr} -like K^+ channel ERG. Cir. Res. 80:261-268.
- Yano H.; L.H. Philipson; J.L. Kugler; Y. Tokuyama; E.M. Davis; M.M. Le Beau; D.J. Nelson; G.I. Bell y J. Takeda (1994). Alternative Splicing of Human Inwardly Rectifying K^+ Channel ROMK1 mRNA. Molecular Pharmacology 45:854-860.
- Yu F.H. y W.A. Catterall (2004). The VGL-Chanome: A Protein Superfamily Specialized for Electrical Signaling and Ionic Homeostasis. Sci. STKE.
- Zhou Z., Q. Gong, B. Ye, Z. Fan, J.C. Makielski, G.A. Robertson y C.T. January (1998). Properties of HERG Channels Stably Expressed in HEK 293 Cells Studied at Physiological Temperature. Biophysical Journal Vol. 74, 230-241.