



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“Participación de los receptores de adenosina A_{2A}
en la modulación y plasticidad corticoestriatal”**

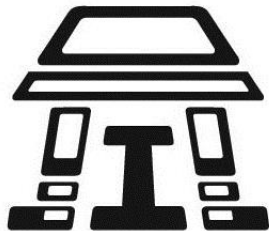
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGO**

PRESENTA

EDMUNDO ESPÍRITU SANTO BARAJAS

**Directora de Tesis: Dra. Alicia Elizabeth Hernández
Echeagaray**



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, México, 2015



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.

*El descontento es la primera
necesidad de progreso.*

THOMAS ALVA EDISON

*El maestro entiende que el
universo siempre está fuera de
control.*

LAO-TSE

AGRADECIMIENTOS

A mi padre por haberme apoyado durante toda la carrera.

A mi abuela Martha por haber sido un ángel durante mi niñez.

A mis hermanos, por brindarme ratos de esparcimiento.

A la Dra. Elizabeth Hernández Echeagaray, por brindarme su confianza, amistad, consejos y enseñanzas tanto académicas como de vida.

A la Maestra Elizabeth Nieto Mendoza por haber estado presente siempre.

A mis amigos y compañeros de laboratorio Elizabeth, Víctor, Rafael, Rebeca, Cesar, Belén y Alam.

A Sol por haber mostrado interés en todos mis proyectos.

A mis amigos de la carrera Pablo, Fernando Alejandro, Gustavo, Laurel y Miriam.

A mis grandes amigos Pavel e Isaac.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Y a todo aquel que pudo haber sido olvidado les aseguro que fue un error humano, mas no una muestra de ingratitud.

ÍNDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	5
RESUMEN.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 SISTEMA NERVIOSO	7
1.2 GANGLIOS BASALES.....	8
1.3 ESTRIADO	10
1.4 TRANSMISIÓN SINÁPTICA.....	10
1.5 PLASTICIDAD Y MODULACIÓN.....	13
1.6 RECEPTORES A _{2A}	14
1.7 ADO COMO NEUROMODULADOR	16
1.8 INTERACCIONES DE A _{2A} EN EL ESTRIADO	17
1.8.1 RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNA G Y SU HETEROMERIZACIÓN	17
1.8.2 LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DE LAS NEURONAS ESTRIATOPALIDALES Y SU RELACIÓN CON LOS RECEPTORES A _{2A} Y D ₂	18
2. APRECIACIONES METODOLÓGICAS.....	21
2.1 REGISTRO DE CAMPO.....	21
2.2 PROTOCOLO DE PULSO PAREADO	22
3. ANTECEDENTES	24
4. JUSTIFICACIÓN.....	26
5. HIPÓTESIS	27

6. OBJETIVOS.....	27
6.1 OBJETIVO GENERAL	27
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES	27
7. MATERIALES Y MÉTODOS	27
7.1 PREPARACIÓN Y PRESERVACIÓN DE LAS REBANADAS	27
7.2 REGISTRO ELECTROFISIOLÓGICO Y PARÁMETROS DE LA ESTIMULACIÓN.....	28
7.3 FÁRMACOS	28
7.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
8. RESULTADOS	29
8.1 REGISTRO DE LA ACTIVIDAD GLUTAMATÉRGICA CORTICO-ESTRIATAL	29
8.2 EFECTO DEL AGONISMO Y ANTAGONISMO DE LOS RECEPTORES A2A EN LA MODULACIÓN Y PLASTICIDAD SINÁPTICA DE LAS CONEXIONES CORTICO- ESTRIATALES.....	31
8.3 EFECTO DE ADO EN MODULACIÓN Y PLASTICIDAD EN LA SINAPSIS CORTICOESTRIATAL.....	31
8.4 EFECTO DE UN AGONISTA (CGS-21680) EN LA MODULACIÓN Y PLASTICIDAD SINÁPTICA DE LAS CONEXIONES CORTICO-ESTRIATALES	36
8.5 EFECTO DE UN ANTAGONISTA (SCH-58261) EN LA MODULACIÓN Y PLASTICIDAD SINÁPTICA DE LAS CONEXIONES CORTICO-ESTRIATALES	40
9. DISCUSIÓN.....	44
9.1 MODULACIÓN.....	44
9.2 PLASTICIDAD.....	47
10. CONCLUSIONES.....	50
11. BIBLIOGRAFÍA.....	51

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A Cyclase/AC: Adenilato ciclasa

A1: Receptor de adenosina tipo 1

A2A: Receptor de adenosina tipo 2

ADO: Adenosina

AMPc: Adenosín monofosfato Ciclico

ATP: Adenosín trifosfato

CaM: Calmodulina

CaMK: Calmodulincinasa

CB1: Receptor de cannabinoides tipo 1

CGS-21680: Agonista específico del receptor A_{2A}

CNQX: Agonista de los receptores AMPA/Kainato

CPDE: Fosfodiesterasa

CRE: Elemento responsable de AMP

CREB: Proteína de unión en respuesta al elemento de AMP cíclico

D1: Receptor de dopamina tipo 1

D2: Receptor de dopamina tipo 2

Darpp-3234: Fosfoproteína regulada por dopamina y AMP cíclico

ERK: Cinasa reguladora de señales extracelulares

FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos

GABA: ácido gamma aminobutírico

GB: Ganglios Basales

Gi/0 Subunidad de proteína G

GPC: Receptores acoplados a proteína G

GPe: Globo pálido externo

GPI: Globo pálido interno

HFS: Tren de alta frecuencia

Krebs: Líquido cerebro espinal artificial

LTD: Depresión a largo plazo

LTP: Potenciación a largo plazo

MAPK: Proteína cinasa activada a través de mitógenos

MSN: Neurona espinosa mediana

NMDA: Ácido N-metil-D-Aspartico

PKA: Proteína Kinasa A

PLC: Fosfolipasa C

PP2B: Calcineurina

PPD: Depresión por pulso pareado

PPF: Potenciación por pulso pareado

RGPC: Receptor acoplado a proteína G

SN: Sistema nervioso

SNC: Sistema nervioso central

SNP: Sistema nervioso periférico

SNr: Sustancia Nigra

TTX: Tetrodotoxina canales de sodio

VDCCs: Canales de calcio dependientes de voltaje

RESUMEN

En los últimos años las neurociencias han proporcionado una enorme cantidad de información respecto a los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la modulación y plasticidad sináptica. Al hablar del primer concepto hay que tomar en cuenta que existen múltiples sistemas de neurotransmisores que actúan simultáneamente en el sistema nervioso de manera pre y postsináptica, modulando o estimulando la actividad neuronal; el segundo concepto fue introducido en 1948 con el propósito de describir cambios persistentes en las sinapsis “independientes” de un modulador o fármaco. Los principales tipos de plasticidad en el sistema nervioso central de los mamíferos se dividen en de corto y largo plazo, este último se divide en potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD); mientras que el primero se refiere a el incremento en la eficiencia sináptica, el segundo, por el contrario, se refiere a la disminución de la misma. Es importante mencionar que la actividad sináptica a largo plazo es considerada como uno de los modelos neuronales más cercanos a los mecanismos celulares que sustentan la memoria y el aprendizaje.

Hoy en día existe una gran variedad de métodos para evaluar la actividad eléctrica de los circuitos neuronales, la técnica utilizada en el presente trabajo fue la de registro electrofisiológico de espigas poblacionales. Dado que hay evidencia que avala la presencia de receptores A_{2A} en las células principales del núcleo estriado, este trabajo se llevó a cabo con la finalidad de describir que efecto se produce a través de la activación o inactivación de los receptores A_{2A} en la transmisión glutamatérgica. Finalmente se demostró que al aplicar los fármacos se genera una modulación positiva (independientemente de su naturaleza agonista o antagonista), por otro lado en lo referente a plasticidad, la activación repetitiva de las vías corticoestriatales, mediante la utilización de un tren de alta frecuencia en ausencia de fármacos relacionados con A_{2A}, producen LTD, contrario a lo que sucedió al aplicar trenes de alta frecuencia en presencia de un agonista o antagonista de dicho receptor.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sistema nervioso

El sistema nervioso (**SN**) está constituido por diversos circuitos, cuando en conjunto procesan tipos similares de información, éstos dan lugar a los llamados sistemas neurales. De manera general, estas agrupaciones pueden ser divididas en sistemas sensitivos, que adquieren y procesan información del entorno (aférentes) y sistemas motores, generadores de movimiento (eferentes) (Parent y Hazrati, 1994).

Para facilitar el estudio del sistema nervioso, los especialistas han realizado una división anatómica “universal” del sistema nervioso de los vertebrados, dividiéndole así en componentes periférico (**SNP**) y central (**SNC**). El SNC está conformado por: el encéfalo (hemisferios cerebrales, diencefalo, cerebelo y tronco del encéfalo) y la médula espinal. Mientras que el sistema SNP está compuesto principalmente por neuronas sensitivas, las cuales conectan a los receptores sensitivos con los circuitos de procesamiento en el sistema nervioso central. Cabe mencionar que también poseen una porción motora conformada por dos componentes; **1**) axones motores que conectan el encéfalo y la medula espinal con los músculos esqueléticos (división motora somática) y **2**) células y axones que inervan el músculo liso, cardíaco y las glándulas (división motora visceral/autónoma) (Randal *et al.*, 2004).

En cuanto al control del movimiento, éste es realizado principalmente por cuatro subsistemas motores distintos pero interrelacionados. El primero está constituido por la médula espinal y el tronco del encéfalo, los que se encargan de la activación temporal y espacial de las motoneuronas inferiores, las cuales constituyen el punto final para la transmisión de la información neural procedente de fuentes diversas. El segundo, es el conjunto de vías descendentes de las neuronas motoras, las cuales están conformadas por los axones de las neuronas motoras “superiores” y se encargan de modular la actividad de las neuronas motoras inferiores. Por último tenemos a los ganglios basales (**GB**) y al cerebelo, estos últimos se encargan de la modulación y aprendizaje de actividades motoras (Purves *et al.*, 2004).

1.2 Ganglios Basales

El término ganglios basales se aplica en general a cinco estructuras ubicadas bilateralmente a cada lado del cerebro, estas son: núcleo caudado, putamen y globo pálido, tres grandes masas nucleares que van por debajo del manto cortical y, los relacionados desde el punto de vista funcional núcleo subtalámico y sustancia negra. Los ganglios basales son un grupo de núcleos subcorticales involucrados en una variedad de procesos, los cuales incluyen funciones motoras, cognitivas y mnemotécnicas. Su papel principal se ejemplifica mejor a través de las manifestaciones clínicas durante los desórdenes motores asociados al desarrollo de patologías como las enfermedades de Huntington y Parkinson (principalmente).

En cuanto al arreglo espacial, es necesario mencionar que la mayoría de conexiones de entrada hacia los ganglios basales provienen de la corteza cerebral. Por otro lado es bien sabido que virtualmente todo el manto cortical proyecta hacia el estriado, esta información cortical es procesada ahí para posteriormente culminar en las células de proyección divididas en: vía directa o indirecta (**Figura 1**).

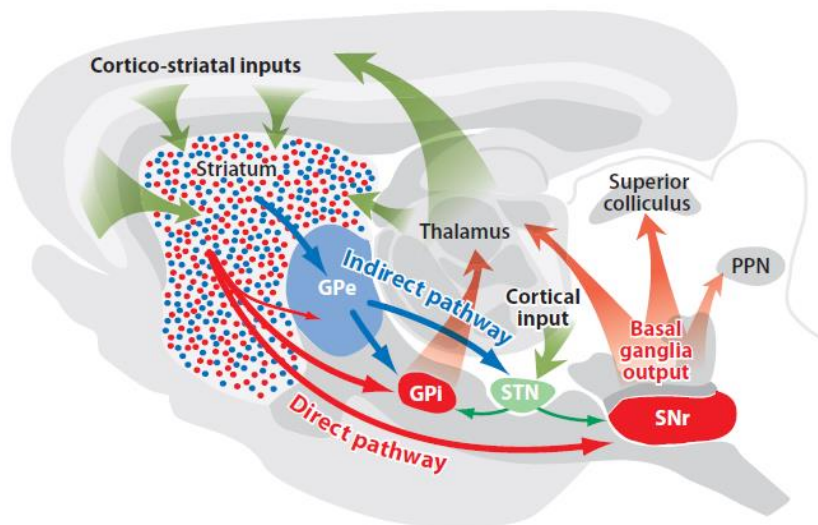


Figura 1. Diagrama de los circuitos de los ganglios basales

El estriado recibe entradas excitatorias a través de las proyecciones de la corteza y del tálamo. Las proyecciones de salida de los ganglios basales surgen desde el segmento interno del globo pálido interno (GPI) y la sustancia negra pars reticulata (SNr), las cuales se dirigen hacia el tálamo. La vía directa se origina desde las neuronas espinosas medianas que expresan el receptor D1, mismas que proyectan hacia los núcleos de salida;

globo pálido y sustancia negra pars reticulata. La vía indirecta se origina desde las neuronas espinosas medianas que expresan el receptor D2, estas proyectan solo al segmento externo del globo pálido (GPe), mismo que en conjunto con el núcleo subtalámico (STN) contiene circuitos transinápticos que conectan a los núcleos basales de salida. Las vías directas e indirectas proporcionan regulación opuesta de la interfaz de salida de los ganglios basales (Tomado de Gerfen, 2011).

Los ganglios basales influyen en el comportamiento, mediante las proyecciones de salida de estos núcleos hacia el tálamo, volviendo nuevamente hacia la corteza, o a regiones subcorticales (premotoras). Estudios recientes demuestran que la organización de estas vías es bastante compleja. Las entradas corticales hacia los ganglios basales, además de inervar a las neuronas espinosas medianas, también inervan interneuronas GABAérgicas, que a su vez inhiben la salida de las neuronas espinosas medianas. Las neuronas del globo pálido inervan individualmente la estructura de salida de los ganglios basales (Purves *et al.*, 2004).

Alrededor de una cuarta parte de ellas (neuronas del globo pálido) también inervan el estriado, pudiendo controlar las proyecciones a través de interneuronas GABAérgicas. Las neuronas del complejo palidal también proporcionan un sustrato anatómico, dentro de los ganglios basales, para la integración sináptica funcional de diversos tipos de información derivada de la corteza. La relevancia esencial de la vía directa e indirecta es; la activación de cada vía propicia un efecto inverso, es decir, al activar las neuronas de la vía directa, se favorecerá el movimiento, y al activar la vía indirecta, se impedirá la generación del mismo (**Figura 2**).

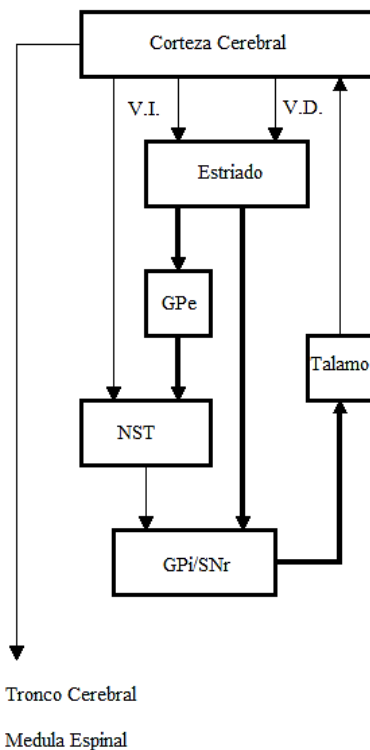


Figura 2. Diagrama de flujo del circuito de los ganglios basales

El circuito se inicia en la corteza y posteriormente se muestran las aferencias de los ganglios basales, tanto en vía directa como en vía indirecta. Las flechas indican las conexiones entre núcleos y dirección de la señal. Las líneas delgadas representan conexiones dependientes de glutamato (GLU) excitadoras y las líneas gruesas representan conexiones GABAérgicas (GABA) inhibitorias. Las siglas de los núcleos presentes en el diagrama son: globo pálido externo (GPe); globo pálido interno (GPi); núcleo subtalámico (NST); sustancia nigra reticulada (SNr). (Modificado de Albin, 1989).

Nota: 1) La corteza siempre excitará al estriado 2) El estriado siempre será inhibitorio 3) GPi y SNr siempre actúan juntos y son inhibitorios 4) Tálamo siempre excitará al estriado

1.3 Estriado

El núcleo estriado está estrechamente relacionado con el control de movimientos y su aprendizaje esto debido a que es el principal receptor de proyecciones excitatorias provenientes de la corteza y tálamo. Sus funciones son llevadas a cabo a través de la actividad neuroestriatal, la cual es capaz de iniciar y/o terminar secuencias de movimientos mediante el procesamiento de estímulos aferentes y controlando los estímulos eferentes, mediante el bloqueo del núcleo de salida en cuestión (GPi y SN sobre el tálamo) a través sus proyecciones GABAérgicas (Bolam, 2000). Está conformado por una población relativamente homogénea de neuronas llamadas espinosas medianas (MSN), este tipo de neuronas GABAérgicas es el más abundante, representando 90-95% de la población total, el otro porcentaje (10%-5%) está compuesto por interneuronas estriatales que a pesar de ser menos numerosas que las neuronas espinosas medianas forman extensas conexiones dentro del estriado, en cuanto a su morfología estas son grandes, poseen un soma alargado y son conocidas por ser colinérgicas (Kawaguchi, 1995).

Las MSN se clasifican en dos subtipos diferentes en función de las diferencias en su expresión génica y las proyecciones axonales (Gerfen et al., 1990). El primer grupo de MSN (nigroestriado), expresan receptores selectivos de Sustancia P, Dinorfina y Dopamina **D1**, éstas envían proyecciones directamente al núcleo del ganglio basal. El Segundo tipo de MSN (estriatopalidales), expresan de forma selectiva receptores de encefalinas, Dopamina **D2** (asociadas a la expresión de receptores purinérgicos de tipo A_{2A}) y envían sus axones al globo pálido externo (Cicchetti et al., 2000 y Gerfen, 1990). Ya que este es una región el cerebro vital para el control motor, hay probabilidad de que exista una relación entre el sistema adenosinérgico y el movimiento (Guvani, 2009). El estriado posee gran interacción a través de sus aferencias (GPi SNr) y eferencias (Corteza y Talamo), esto se traduce en que puede tanto afectar tejido “blanco”, como ser afectado dependiendo de a que “altura” de la vía donde se origina la liberación del neurotransmisor (Lovinger 2010).

1.4 Transmisión Sináptica

La sinapsis es el punto de contacto que permite a las neuronas interactuar entre sí, a través de ella se forman los circuitos que median las operaciones funcionales específicas de las diferentes

regiones del cerebro. De ello se deduce que la sinapsis es la unidad estructural y funcional elemental para la construcción de los circuitos neuronales (Shepherd, 2004).

En cuanto a su naturaleza esta se divide en dos, las **sinapsis eléctricas**, las cuales consisten en el acople eléctrico de dos neuronas mediante proteínas de membrana, una presináptica y otra postsináptica. Este tipo de sinapsis transfiere información entre células por acoplamiento iónico directo. En una sinapsis eléctrica, las membranas plasmáticas de las células pre y postsináptica están en íntima aposición y están acopladas mediante estructuras proteicas denominadas uniones tipo gap. Puesto que la corriente viaja a través de las uniones hendidas, una señal eléctrica en la célula presináptica produce una señal similar en la célula postsináptica, aunque ligeramente atenuada, por la simple conducción eléctrica a través de la unión. Así en una sinapsis eléctrica, la transferencia de información tiene lugar por medios puramente eléctricos (**Figura 3**), sin la intervención de un transmisor químico.

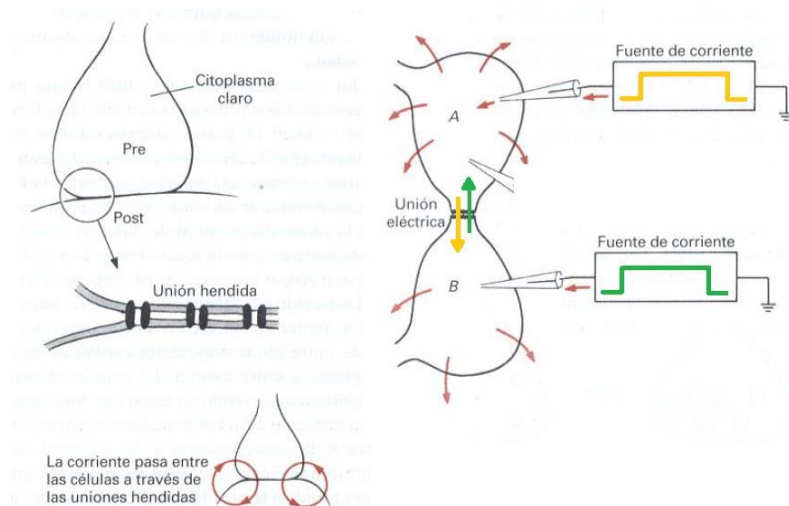


Figura 3. Diagrama de la sinapsis eléctrica.

Funcionamiento de la sinapsis eléctrica en la cual las uniones hendidas conectan las membranas pre y postsinápticas permitiendo el flujo de corrientes iónicas y generando así un cambio de potencial en ambas células, independientemente de si se estimula A o B (aunque el mayor cambio se verá reflejado en la célula donde se inyecte la corriente) (Modificado de Randal 2004).

Una característica clave de la transmisión sináptica eléctrica es su rapidez. Cabe mencionar que en los mamíferos este tipo de sinapsis es poco común, siendo más frecuente la **sinapsis química** (que se divide en dos, lenta y rápida). Ambas se caracterizan por usar un mediador químico como molécula neurotransmisora, la cual se encuentra almacenada en vesículas, mismas que se movilizan cuando hay un cambio en la permeabilidad de la membrana, activando canales de calcio dependientes de voltaje y permitiendo la entrada de calcio. Este

último promueve la secreción de neurotransmisor mediante exocitosis hacia el fluido extracelular que circunda la hendidura sináptica. Las moléculas de neurotransmisor liberadas se unen a moléculas proteicas receptoras en la membrana postsináptica y como resultado, si la molécula receptora es de naturaleza ionotrópica, se generará una breve corriente iónica a través de la membrana de la célula postsináptica y solo estará relacionada con la apertura de un único tipo de canal iónico, por otro lado si su naturaleza es metabotrópica, se producirá una respuesta más lenta, duradera, y además se abrirán varios canales iónicos mediante la activación diversos tipos de segundos mensajeros (**Figura 4**). Este mecanismo es la base de la transmisión sináptica en todos los animales.

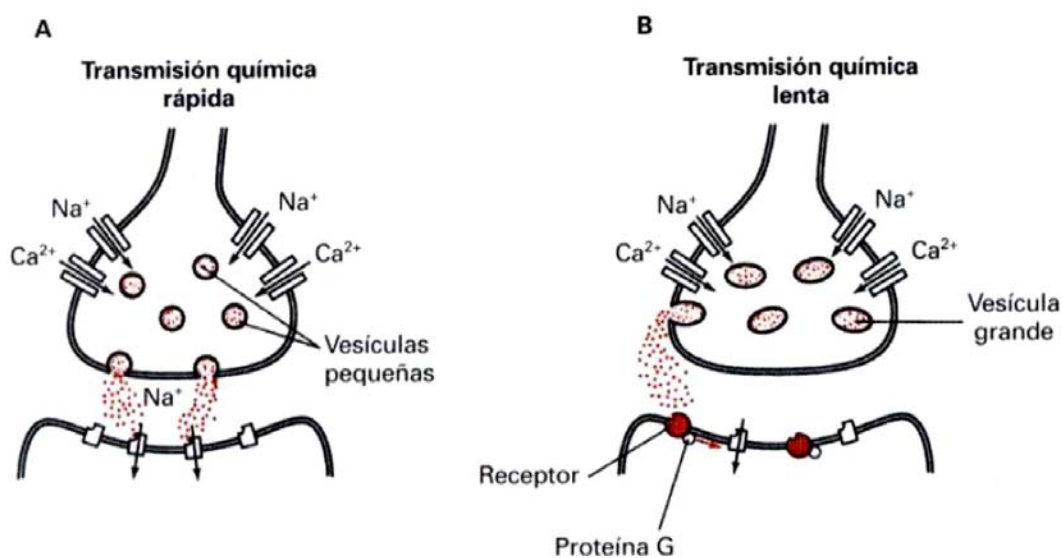


Figura 4. La transmisión sináptica química rápida y la transmisión sináptica química lenta actúan a través de mecanismos postsinápticos distintos. **A)** En la transmisión química rápida, los neurotransmisores se sintetizan en las terminales y se almacenan en vesículas. Estos transmisores son moléculas pequeñas (normalmente). Las vesículas se localizan cerca de la membrana plasmática y los transmisores se liberan por exocitosis en la hendidura sináptica, a través de lugares especializados en la membrana, tras ser liberados, estos neurotransmisores actúan sobre canales dependientes del ligando en la membrana postsináptica (receptores ionotrópicos) **B)** en la transmisión sináptica lenta, los neurotransmisores son, característicamente, moléculas grandes (por ejemplo péptidos). Estos transmisores se almacenan en vesículas grandes, fácilmente distinguibles y se liberan desde puntos carentes de especialización morfológica; localizados lejos de los lugares en que se liberan los neurotransmisores rápidos. Los neurotransmisores actúan sobre la célula postsináptica mediante receptores metabotrópicos, los cuales están unidos a proteínas G modificando canales y otros procesos intracelulares.

1.5 Plasticidad y modulación

En los últimos 30 años, la investigación ha generado una enorme cantidad de datos sobre las características que subyacen a los mecanismos celulares y moleculares de la plasticidad sináptica. El psicólogo polaco Konorski (1948) fue el primero en introducir el término “plasticidad sináptica” para describir los cambios persistentes y dependientes de actividad en la fuerza sináptica. Varias formas de plasticidad a largo plazo han sido observadas en el sistema nervioso central de los mamíferos; tanto la potenciación a largo plazo (**LTP**), como depresión a largo plazo (**LTD**), representan las dos formas principales de plasticidad. La LTP es una actividad a largo plazo dependiente de aumento de la eficacia sináptica que se traduce como un incremento en la amplitud de la respuesta, esta se genera después de la estimulación de baja frecuencia, mientras que la LTD es la disminución de la eficacia sináptica (decremento en la amplitud de la respuesta), tras la estimulación en tren de alta frecuencia (**HFS**). La LTP, junto con otras formas de plasticidad sináptica es considerada el modelo neuronal más cercano a los mecanismos celulares que participan en la memoria y el aprendizaje (Bliss y Collingridge, 1993; Abel et al., 1997; Malenka y Nicoll, 1999; Martin et al., 2000; Lynch, 2004; Malenka y Bear, 2004).

Por otro lado, existen múltiples sistemas de neuromoduladores que actúan simultáneamente en el cuerpo estriado de forma pre y postsináptica modulando o cambiando la actividad (y la respuesta) neuronal. Esto crea un entorno en el cual las neuronas individuales integran múltiples sistemas de entrada de información que a menudo actúan en colaboración para afectar a la excitabilidad y los efectos de adaptación sináptica a corto y largo plazo que subyacen en su función fisiológica. Esta organización pone énfasis significativo en los principios y en los mecanismos de las vías de señalización intracelular, mismos que interpretan, coordinan e integran las señales acarreadas por múltiples neurotransmisores y neuromoduladores es necesario hacer hincapié en que la diferencia entre ellos reside en que mientras el primero es una sustancia química liberada desde la presinapsis, que se une a la postsinapsis, da pie a la apertura de canales iónicos (ionotrópicos o metabotrópicos), el segundo también puede ser liberado desde la presinapsis, sin embargo al momento de su unión a un receptor, esto no genera la apertura de un canal iónico, sino que afectará la eficacia del neurotransmisor en la apertura de canales, en otras palabras modulará el efecto del neurotransmisor, cambiando positiva o negativamente la eficiencia del neurotransmisor (Xie y Martemyanov, 2011).

Estudios realizados *in vivo* e *in vitro* de poblaciones celulares, han brindado evidencias de que las señales desencadenadas por ADO contribuyen a modular la liberación de algunos neurotransmisores (Sperlagh, 1991; Allgaier, 1994; Shigetomi 2004). Sin embargo existen diversos tipos de receptores de ADO los cuales ya han sido clasificados.

1.6 Receptores A2_A

Los receptores purinérgicos **P1** responden principalmente a la ADO. Los subtipos de este receptor se designan como A1, A2 y A3, y éstos a su vez se subdividen, como en el caso del receptor A2 en A2_A y A2_B. Todos los receptores a ADO presentan una estructura general que los podría colocar dentro de la familia de los receptores a la rodopsina, que a su vez pertenece a la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G. El receptor A2 (**A2R**) se ha definido en función de su capacidad de interactuar con la proteína G estimuladora (Gs) (Flores y Galindo, 2006). Los receptores de ADO son ubicuos, expresándose por lo menos una de sus cuatro formas de modo funcional en casi todos los tipos celulares. Los subtipos A1 y A2_A se activan a bajas concentraciones de ADO extracelular (receptores de alta afinidad) (Jacobson, 2006).

Los A1 se expresan ampliamente en tejidos periféricos, mientras que en el SNC, se puede expresar en altos niveles dentro de estriado, corteza, cerebelo e hipocampo (Ribeiro, 2003). Estos receptores A1 son los mayores responsables de la disminución de la liberación del neurotransmisor en la sinapsis excitatoria (efecto ADO-depresivo), su activación promueve la preservación de la energía y las acciones de protección en todo el cuerpo (Dunwidde, 1985). En el nivel sináptico, la neuroprotección está directamente relacionada con la capacidad de A1 para inhibir la transmisión sináptica durante el daño tisular, esto probablemente se debe a una acción inhibitoria sobre la liberación de glutamato concertada a nivel presináptico y a la activación de NMDA en el nivel postsináptico (Tebano, 2010).

Los antagonistas del A2_A representan un mediador clave para generar un efecto conductual. A pesar de que el ARNm de los A2_A se ha encontrado en casi todas las áreas del SNC, la mayor expresión del receptor se produce principalmente en las neuronas del estriado (neuronas de proyección GABAérgicas, estriatoparvalos e interneuronas colinérgicas), en el núcleo accumbens, y tubérculo olfatorio. En menor medida los A2_A se ha encontrado en el hipocampo y la corteza cerebral, aunque las poblaciones que predominan en estas zonas no son

idénticas a los receptores estriatales "clásicos" además de ser consideradas como expresiones "poco comunes" (Sebastiao, 1996 y Moreau, 1999).

La principal ruta del segundo mensajero vinculado a A_{2A} es la activación de la AC, dando lugar al aumento del AMP cíclico intracelular (AMPc). Se ha demostrado que, en condiciones fisiológicas, la activación de los A_{2A} Rs es responsable de un aumento tónico en niveles basales de AMPc (Svenningsson, 1995 y 1999). El receptor A_{2A} no sólo se expresa en las neuronas sino también en las células gliales, las cuales parecen estar involucradas en la modulación de la respuesta inflamatoria de los astrocitos durante una lesión, se pueden encontrar tanto en pre como en postsinápsis (Brambilla, 2003).

A nivel presináptico, la activación de A_{2A} Rs facilita la liberación de glutamato por lo que los antagonistas de A_{2A} R se consideran como fármacos neuroprotectores prometedores, en condiciones en las que la excitotoxicidad juega un papel patogénico. En contraste, se ha encontrado que el bloqueo de A_{2A} R no reduce o incluso puede potenciar los efectos provocados por la activación directa del receptor de NMDA en el cuerpo estriado. Por lo tanto, parece ser que la activación A_{2A} influye diferencialmente los mecanismos de excitotoxicidad, ejerciendo efectos perjudiciales por su capacidad para aumentar los niveles de glutamato extracelular en el sitio presináptico, además de poder brindar efectos potencialmente beneficiosos mediante la modulación de la actividad del receptor de NMDA en el sitio postsináptico (Tebano, 2004). Sin embargo, además de sus acciones pre-y postsinápticas directas en los receptores de las neuronas, estos receptores están involucrados principalmente en el desencadenamiento o la modulación de la activación / inactivación de otros neurotransmisores o neuromoduladores a lo largo de un sofisticado diafonía ya sea a nivel del sistema de transducción o el seguimiento oligomerización del receptor (Sebastiao, 2000 y Ferré, 2007).

En resumen, los sitios de A_{2A} se unen con los receptores de distintos neurotransmisores para formar entidades del receptor divergentes en los diferentes niveles sinápticos. De hecho, en el sitio presináptico, la A_{2A} forma dímeros con A₁ y el receptor de cannabinoides (CB1), mientras que en el sitio postsináptico se asocia con el receptor de dopamina D2 (D2R) y/o de tipo 5 receptores metabotrópicos de glutamato (mGlu5R) y posiblemente CB1R. Sin embargo, a nivel

estriatal, múltiples interacciones entre A_{2A}, los receptores D₂, mGlu₅ y CB₁ se han descrito a nivel bioquímico y de comportamiento, lo que sugiere la posible existencia de oligómeros.

1.7 ADO como neuromodulador

La ADO es un neuromodulador importante en la neurotransmisión glutamatérgica actuando a través de los receptores de ADO (Fredholm et al., 2001), ellos están expresados abundantemente en el estriado. El objetivo y el mecanismo de la modulación adenosinérgica son fundamentalmente distintos de la modulación dopaminérgica. De hecho, mientras dopamina es un señalador extrínseco (dependiente del disparo de neuronas cuyos cuerpos celulares están localizados en sustancia nigra y pars compacta), la ADO es un señalador intrínseco, desde el momento en que es producido localmente en función de la actividad del circuito estriatal (Schiffmann, 2007).

Al parecer existen dos fuentes principales de ADO extracelular. La primera es debido a un comportamiento similar a una hormona, en el cual, la ADO incrementa en función de la carga general del circuito (Schiffman, 1993). De este modo, aquellos con un incremento en la carga de trabajo, (por ejemplo, incremento en disparos por unidad de tiempo) necesitarán un mayor consumo de ATP tanto en neuronas como en astrocitos, para mantener la homeostasis iónica y el potencial de membrana. La desfosforilación de ATP (presente extracelularmente en rangos milimolares) genera ADO, cuyos niveles incrementan sustancialmente sobre los niveles basales intracelulares, los cuales se encuentran en un rango nanomolar. Esta acumulación de ADO intracelular se traduce en un aumento de los niveles de ADO extracelular, ya que prácticamente todos los tipos de células están equipadas con transportadores de nucleósidos bidireccionales y noconcentrativos (Geiger, 1991). Este mecanismo garantiza que haya una fluctuación local tanto en los niveles extracelulares de ADO como en la función de la actividad local del cuerpo estriado (Brown, 1990).

Al mismo tiempo se genera un segundo mecanismo para la generación de ADO extracelular, el cual podría estar particularmente relacionado con el control de la actividad sináptica ya que genera específicamente una “poza sináptica de ADO”. Varios estudios han proporcionado evidencia de la formación de ADO extracelular como resultado de la acción de las ecto-nucleotidasas (Zimmermann, 2000) en el ATP liberado por la estimulación del nervio

(Cunha, 2001). El ATP se libera junto con la mayoría de neurotransmisores, ya que está presente en las vesículas sinápticas junto con diferentes neurotransmisores, incluyendo al glutamato (Cunha y Ribeiro, 2000). De este modo, la poza sináptica de ADO se mantiene constante a través de la función neuronal (Cunha, 2001). El ATP extracelular también puede ser originado por medio de las células gliales, dado que el ATP se almacena y se libera de las vesículas sinápticas en los astrocitos (Zhang et al, 2003; Koizumi et al, 2003; Newman, 2003).

La contribución relativa de los diferentes tipos celulares (astrocitos o neuronas, presinápticos o no sinápticos) y fuentes metabólicas de ADO extracelular (liberado como tal o formada posterior a la liberación de ATP) todavía no está bien definido. Sin embargo, independientemente de su origen, siempre se espera que en condiciones fisiológicas los niveles extracelulares de ADO estén altamente relacionados con la carga de trabajo dentro del sistema (Schiffmann, et.al 2007).

1.8 Interacciones de A_{2A} en el estriado

1.8.1 Receptores acoplados a proteína G y su heteromerización

Los receptores acoplados a la proteína G (R GPC y ligandos relacionados con la apertura de canales iónicos) deben ser considerados como agregados multimoleculares y no como unidades individuales (Agnati, 2003a). En su mayoría, los receptores GPC están funcionalmente conectados con otras moléculas, ya sean intrínsecas a la membrana plasmática o asociados con superficies extracelulares o intracelulares de la membrana. La función de cada R GPC puede ser altamente afectada por sus interacciones con diversas moléculas, especialmente proteínas. Por medio de estas interacciones, se ha considerado que el receptor puede asumir diversos tipos de estados, los cuales son ligeramente diferentes en afinidad por sus agonistas. Por ello se ha considerado que el receptor puede funcionar como una “microcomputadora” cuyo estado conformacional y función dependerá de su capacidad para actuar como un integrador de diferentes señales físico-químicas procedentes del espacio extracelular, intermembranal y microambientes intracelulares aunado a esto las interacciones receptor-receptor o receptor-receptores, son la fuente más importante para estos tipos de señalización.

Las interacciones receptor-receptor pueden ser clasificadas en indirecta y directa las primeras son señalamientos dependientes, por ejemplo, donde la conformación estérica de un receptor es modificada por cambios en el potencial de membrana inducidos por las corrientes iónicas asociadas con la estimulación de receptores ionotrópicos (ligados a la apertura de canales iónicos) o la fosforilación o desfosforilación inducida por la señalización inducida por la estimulación de un receptor metabotrópico, este tipo de interacción no incluye vías de señalización (segundos mensajeros). Por otro lado, las interacciones directas receptor-receptor también llamadas intermembranales, no dependen de la señalización del receptor, esto es, que el efecto bioquímico comúnmente es propiciado a través de estimulación de un receptor que cambia la afinidad de un agonista de otro receptor. Estas relaciones directas pueden depender de proteínas de conexión o adaptadoras, (extra celular, intramembranal o intracelularmente) o pueden estar realmente relacionadas de un modo directo, en la formación de homómeros o heterómeros del receptor (Agnati, 2003b). Se ha sugerido que la homomerización y la heteromerización de receptores acoplados a proteínas G, depende del contacto entre hélices transmembranales, intercambio de hélices transmembranales o la unión entre bucles intra y extracelulares. Recientemente se ha demostrado la existencia de un nuevo mecanismo, un epítotope-epítotope de interacción electrostática, el cual es responsable de la heteromerización de los receptores de A_{2A} y D₂ (Agnati, 2003; Zoli, 1993).

1.8.2 Las espinas dendríticas de las neuronas estriatopalidales y su relación con los receptores A_{2A} y D₂

Como ya se había mencionado antes el estriado es la estructura clave en cuanto a los ganglios basales se refiere, de modo funcional se divide en estriado dorsal y ventral el primero está envuelto en el aprendizaje y la ejecución de actividad motora compleja mientras que el segundo forma parte de los circuitos cerebrales relacionados en la conversión de motivación en acción y en la selección de las respuestas conductuales apropiadas generadas a través de estímulos motivacionales específicos.

Hay que tener en cuenta que a nivel celular, el aprendizaje de actos motores complejos es dependiente de cambios en la plasticidad sináptica producida en las espinas dendríticas de las MSN eferentes GABAérgicas del estriado (Ferré, 1997).

Estas neuronas al constituir el mayor porcentaje de la población neuronal del estriado, reciben dos eferencias que convergen en sus espinas dendríticas: una eferencia dopaminérgica desde la sustancia nigra y el área ventral tegmental y la otra eferencia glutamatérgica, desde las áreas cortical, talámica y límbica (Ferré, 2004) (**Figura 5**).

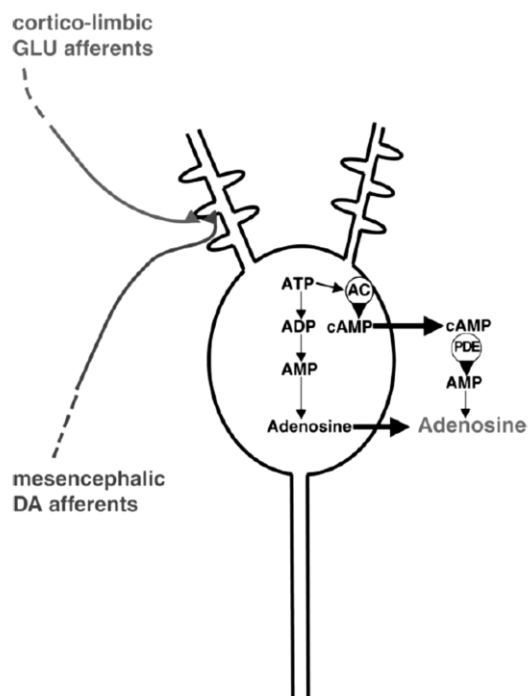


Figura 5. Neurona estriatal eferente y sus principales fuentes aferentes

1) Dopamina [mesencefálicas y dopaminérgicas (DA)], 2) Glutamato [cortico límbicas (GLU)] y 3) Adenosina (Adenosina intracelular AMP-C). Adenilato ciclasa es abreviado como AC y Fosfodiesterasa como CPDE (Ferré, 2004).

Además de la dopamina y el glutamato, el neuromodulador ADO juega un papel importante en la función de las neuronas eferentes GABAérgicas estriatales (Ferré, 1992). La ADO estriatal extracelular proviene en su mayoría del interior celular y/o del AMP Cíclico intracelular metabolizado por las fosfodiesterasas. En consecuencia, la ADO puede ser producida metabólicamente a través de la activación de células (altos niveles de consumo de ATP) o por células que han acumulado AMP Cíclico a través de la estimulación de receptores relacionados con la AC (Akhondzadeh, 2000).

De los cuatro subtipos de receptores a ADO (A₁, A_{2A}, A_{2B} y A₃), los receptores A_{2A} son los que muestran mayor densidad en el estriado, particularmente en las espinas dendríticas de las neuronas estriatopalidales, especialmente en las proximidades de la sinapsis glutamatérgica. Los receptores A_{2A} también se encuentran en la presinápsis de la terminal glutamatérgica pero en

menor medida y en la postsinápsis alrededor de la sinapsis dopaminérgica (Schiffmann, 1991 y Hettinger, 2001). Los receptores D₂, poseen una ubicación pre y postsináptica (perisináptica) tanto en la sinapsis dopaminérgica como en la sinapsis glutamatérgica. La sinapsis glutamatérgica está posicionada a la cabeza de la espina dendrítica, mientras que el contacto dopaminérgico aferente hace contacto con el cuello de la espina dendrítica (**Figura 6**). Esta situación anatómica permite que tanto dopamina como ADO jueguen un papel importante en la modulación de los efectos excitatorios del glutamato en las espinas dendríticas, las cuales podrían involucrar cambios en la plasticidad a corto y largo plazo, importantes tanto en condiciones fisiológicas como en patológicas.

La colocalización de los receptores A_{2A} y D₂ en las espinas dendríticas de la neurona estriatopallidal dá pie a la posibilidad de que exista una fuerte función antagónica entre ambos receptores (Popoli, 2001). Los resultados obtenidos mediante el uso de distintos protocolos experimentales (microdialisis in vivo y registro electrofisiológico) han demostrado claramente que A_{2A} ejerce un papel excitador en la función de las neuronas estriatopallidales, lo cual está, por lo menos parcialmente relacionado con el efecto antagónico de la estimulación de A_{2A} (Ferré, 2003).

Al inicio de los años noventa, los científicos enfocaron su interés en las interacciones funcionales que podrían proveer un nuevo acercamiento para la terapia de desórdenes neuropsiquiátricos, basados en el uso de un antagonista selectivo de A_{2A} para el tratamiento de pacientes parkinsonianos o un agonista para esquizofrénicos, de hecho se han realizado estudios clínicos en los cuales se demostró que el efecto anti-antiparkinsonianos de la L- DOPA se incrementa mediante la adición de un antagonista selectivo A_{2A}, aumentando el índice terapéutico (relación de los efectos terapéuticos y efectos secundarios no deseados). Además, un inhibidor de la captación de ADO dipiridamol ha sido reportado para potenciar los efectos antipsicóticos de haloperidol (Ferré et al. 1997).

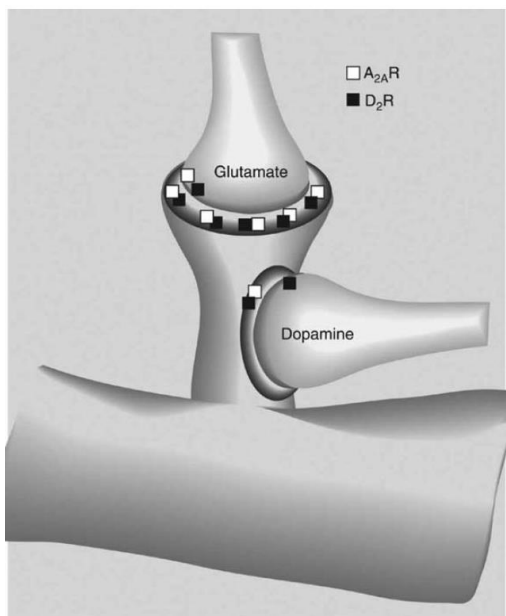


Figura 6. Localización de los receptores A_{2A} y D₂ en una espina dendrítica de una neurona GABAérgica estriatopalidal

Donde los cuadros blancos muestran la ubicación de A_{2A} y los cuadros negros, la ubicación de los D₂ (Ferré 2004).

2. APRECIACIONES METODOLÓGICAS

2.1 Registro de campo

El registro extracelular es pionero en lo que refiere a las técnicas de registro electrofisiológico, éste funciona a través de micro electrodos de borosilicato de baja resistencia, evaluando cambios de voltaje del espacio circundante de las neuronas y sus axones. Este tipo de registro consiste en introducir el electrodo al tejido, así se forma un sello de baja resistencia entre la punta del electrodo y las células que le rodean, de este modo es posible detectar pequeñas variaciones de voltaje en el tejido. Cabe mencionar que esta técnica es altamente recomendable, debido a la naturaleza poco invasiva y generalmente se utiliza al inicio de investigaciones de tipo farmacológico. Otra virtud que posee esta técnica reside en que los datos generados con la ayuda de este tipo de registro son producto de cientos de potenciales generados en las neuronas, de esta manera éstos tienen una mayor validez estadística.

En lo referente al registro extracelular, la variante más utilizada es la de registro de potenciales de campo (principalmente cuando se desea estudiar la actividad sináptica), la cual consiste en realizar el registro de potenciales extracelulares de las corrientes iónicas asociadas a la actividad de una población de neuronas. Las señales son generadas mediante la estimulación

eléctrica de la actividad celular y el consecuente flujo eléctrico entre dos puntos del espacio extracelular. La estimulación produce espigas poblacionales, gracias a la sincronización de varios potenciales de acción, la amplitud las cuales depende principalmente de tres factores, 1) sincronización poblacional, 2) distribución de la población activa y 3) resistencia del tejido. Basándonos en este hecho, al realizar registros de potenciales de campo, se podrán observar distintos tipos de deflexiones dependientes del área de registro. La primera deflexión corresponde al artefacto, la segunda es llamada n1 o descarga axónica y se debe al estímulo del axón de las neuronas. La tercera deflexión también llamada n2 es de origen sináptico y se produce cuando las aferencias que llegan al árbol dendrítico o al soma de la neurona, generan un potencial postsináptico, el cual viaja al cono axónico, donde se da origen al potencial de acción (**Figura 7**). Por último es importante recalcar que dicho potencial no puede ser generado en soluciones de bajo calcio, ni en presencia de CNQX, TTX o Kinurenato, mismos que han sido reportados como bloqueadores de la transmisión glutamatérgica (Bargas et al. 1998).

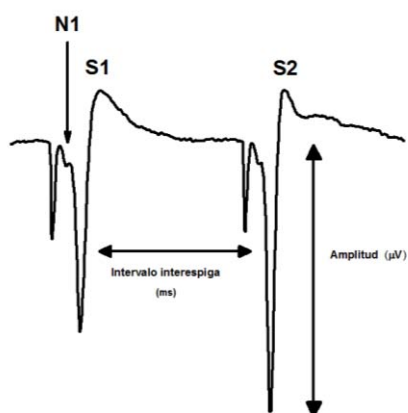


Figura 7. Representación gráfica del registro de campo en pulso pareado.

Aquí podemos apreciar la primera deflexión, la cual es un estímulo artificial. La segunda deflexión N1 es la despolarización axónica, la tercera S1 o S2 es producto de la sincronización de potenciales de campo poblacionales. La línea horizontal representa el intervalo en mili segundos y la línea vertical representa la amplitud en micro Volts.

2.2 Protocolo de Pulso Pareado

Para analizar si los cambios modulatorios o plásticos fueron presinápticas o posinápticas se utilizó el protocolo de pulso pareado, el cual está basado en la teoría del calcio residual (Katz y Miledi, 1968). El pulso pareado se fundamenta en la aplicación de dos estímulos de misma

intensidad y duración, con un periodo refractario de aproximadamente 50ms. El primer estímulo genera una respuesta que nosotros llamamos S1, éste se genera principalmente como resultado de la activación de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, mismos se encuentran en la presinapsis y provocan un incremento en la concentración interna de este ion, en ese momento, las vesículas sinápticas se fusionan con la membrana provocando la liberación del neurotransmisor en el espacio sináptico mediante exocitosis. Es importante mencionar que los sistemas de recaptura de calcio son más lentos que el transporte a través de canales dependientes de voltaje, por este motivo al aplicar un segundo estímulo el S2, por lo general poseerá una mayor amplitud, ya que el Ca^{2+} del segundo estímulo es sinérgico al primero (a su calcio residual), así la entrada de Ca^{2+} es mayor en la segunda respuesta, y esto genera una mayor probabilidad de liberación de neurotransmisor; a esto se le llama facilitación de pulso pareado (Katz y Miledi, 1968). En contraparte tenemos la depresión por pulso pareado, esto sucede cuando la intensidad del primer estímulo es demasiado elevada, esto genera la saturación de calcio intracelular, en consecuencia se libera la mayor parte del neurotransmisor y así, el segundo estímulo no generará un incremento en la liberación, pues la neurona habrá sido depletada, liberándose solo una pequeña cantidad de neurotransmisor (Katz y Miledi, 1968) (**Figura 8**).

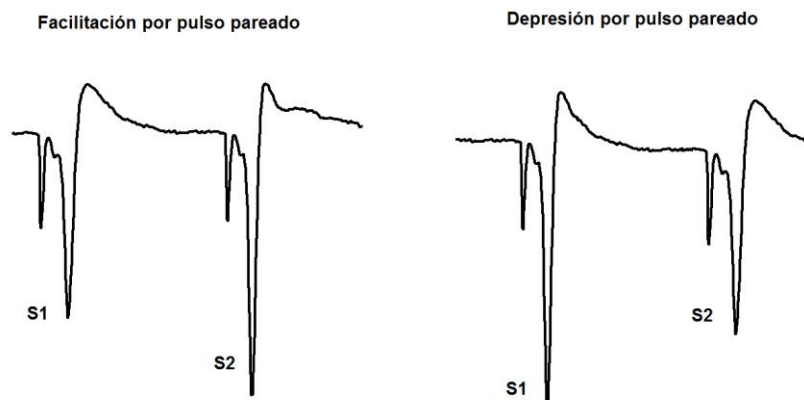


Figura 8. Trazos representativos de facilitación y depresión por pulso pareado. Como es apreciable, durante la facilitación la segunda respuesta será mayor que la primera. Por el contrario en la depresión por pulso pareado donde el primer potencial será mayor que el segundo (Para una explicación más detallada leer el texto).

3. ANTECEDENTES

Tebano y Popoli (Popoli et al., 2002, Tebano et al., 2002) encontraron que el antagonista selectivo de A_{2A}, SCH 58261, reduce significativamente los efectos dañinos del ácido quinolínico en el área corticoestriatal, pero no en las rebanadas de hipocampo, indicando que el efecto de este compuesto es específico para una región. No pudieron demostrar que SCH 68261 únicamente afecte a los A_{2A}. Reportaron que si el ácido quinolínico actúa tanto en la presinapsis (incrementando la liberación de glutamato) como en la postsinapsis (estimulando los receptores de NMDA) el SCH 58261 ejerce efectos opuestos en ambos sitios, reduciendo la liberación de glutamato y al mismo tiempo incrementando los niveles de Ca²⁺ inducidos inicialmente por el ácido quinolínico.

Calabresi et al. 1997; Latini et al., 1999; Sebastiao et al., 2001. Reportaron que posiblemente A_{2A} y A₁ se bloquean al mismo tiempo por SCH58261. Mencionan también que el bloqueo del A₁ inhibe la depresión de la respuesta eléctrica producida por hipoxia en hipocampo o glicemia en el estriado.

Martire y cols. (2007) reportaron el efecto de NMDA genera un mayor decremento de la respuesta sináptica en ratones transgénicos R 6/2 de HD en comparación con los WT. Por otro lado, al aplicar CGS 21680, un agonista selectivo de A_{2A}, en WT genera un incremento de la exitotoxicidad de NMDA, mientras que en los ratones R6/2 por el contrario dicho agonista ayuda a recuperar un porcentaje de la respuesta sináptica. Ellos proponen que de alguna manera si llegaran a bloquear A_{2A} se reduciría la salida de glutamato en los ratones HD.

Flajolet et al. 2008, reportaron que posiblemente la vía ERK/MAPK puede ser activada por A_{2A} vía cAMP/PKA-EPAC/. Argumentan que los A_{2A} incrementa la fosforilación de la tirosina del receptor FGF (Factor de crecimiento de fibroblastos) y a través de la activación de este mismo receptor, se incrementan los niveles de AMPc o la localización de los receptores A_{2A} en la superficie celular. Revelaron que la coactivación de los receptores A_{2A} y FGF, resultan en la estimulación de ERK 1/2, y lo sustentaron a través de la inducción de LTP (HFS) en las sinapsis corticoestriatales de las neuronas espinosas medianas estriatopalidales, pero no en sus vecinas

estriatonigrales. Según ellos la inducción de la plasticidad probablemente es resultado de efectos postsinápticos directos tanto de los receptores de FGF como los A_{2A} en las neuronas espinosas medianas estriatopalidales. Basándose en el hecho de que las rebanadas de cerebro parasagitales preservan la conectividad entre neuronas espinosas medianas y piramidales corticales, les fue posible activar selectivamente los axones corticoestriatales durante el protocolo de inducción, sin activar las fibras que pasan a través del estriado. Según ellos, las neuronas colinérgicas son las que pueden facilitar la inducción de LTP en las sinapsis de la neurona espinosa mediana glutamatérgica, pero son débilmente activadas mediante entradas corticales; por otro lado, sostienen que la ADO inhibe la apertura de los canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje, mismos que controlan la liberación de acetilcolina, desechando así cualquier papel de las interneuronas.

Shindou et al. 2008, con el empleo de registros de pares de neuronas mediante la técnica de Whole Cell (registro de célula completa) reportaron que los receptores de A_{2A} facilitan la transmisión de la sinapsis GABAérgicas a través de las colaterales intraestriatales. También reportaron que en la misma sinapsis, la modulación generada por A_{2A} probablemente es de origen presináptico. Por el contrario, sugieren que en la sinapsis glutamatérgica, los efectos moduladores de este receptor son generados a través de la postsinapsis.

Halldner et al. 2000, proponen que no se genera tolerancia al realizar una aplicación crónica de un antagonista específico de A_{2A} (SCH 58261), contrario a lo que sucedería con uno no específico (cafeína). Reportaron también que la aplicación aguda o crónica de este antagonista no causa cambios en la expresión de A₁ A_{2A} D₁ o D₂. En el aspecto conductual concluyeron, que al igual que lo reportado con el tratamiento con cafeína, SCH 58261 genera un incremento en la actividad locomotora, (esto no ocurrió en ratones knock-out de A_{2A}). Ellos concluyen que el comportamiento generado por un bloqueador no selectivo de ADO, puede ser bloqueado por un antagonista de dopamina y que de hecho las acciones de dicho agonista son incrementadas por el bloqueo de A_{2A}. Por último no dejan a un lado que haya por lo menos una pequeña relación entre el bloqueo de A_{2A}, el incremento de la actividad motora y la expresión de mRNA de C-fos en las áreas corticales.

Orrú et al. 2011 descubrieron que la disfunción de los receptores estriatales postsinápticos A_{2A} en un modelo de HD inicia desde antes de presentarse el estado

sintomatológico. Utilizando un antagonista presináptico de A_{2A} (SCH-442416) demostraron que durante la estimulación cortical, existe una la reducción entre la correlación de pulso pareado y la liberación de glutamato. Esto indica que durante el Huntington, se preserva la función de los receptores estriatales A_{2A} presinápticos.

Mishina et al. 2012 reportó que los niveles de expresión de A₁ en humanos, se ven disminuidos al envejecer, contrario al A_{2A}, el cual permanece constante. Discrepando con lo reportado por Cunha y cols. 1995 quienes reportaron que en ratas, A₁ no cambiaba a lo largo del envejecimiento, mientras que A_{2A} sufría una disminución.

Peterson et al. 2011, mediante estudios conductuales y con el registro de Whole cell, declararon que la administración de un antagonista de A_{2A} podía tener un efecto efectivo en el ámbito conductual, pero no prevenir la pérdida de las sinapsis ni de las espinas de las neuronas espinosas estriatopalidales, pero sí ayudó a evitar el incremento de las sinapsis corticoestriatales anómalas, generadas por la depleción de dopamina. Este antagonismo también disminuyó la excitabilidad generada durante dicha depleción. Ellos sugieren que este efecto puede ser mediado en parte por una normalización de la actividad de receptores muscarínicos, sugiriendo que el antagonismo de A_{2A} ejerce un efecto durante la depleción de dopamina a través de la liberación de acetilcolina. En resumen el antagonismo de A_{2A} puede ser que funcione aminorando la actividad de las neuronas estriatopalidales y ayudando a reestablecer el balance con las nigroestriatales, disposición importante para el funcionamiento normal del control motor y la selección de acciones.

4. JUSTIFICACIÓN

Debido a que ha sido reportada la existencia de receptores A_{2A} en el sistema nervioso central, principalmente dentro del estriado (Guvani, 2009) y dado que existe evidencia de que las MSN poseen receptores adenosinérgicos, el objetivo de este trabajo fue evaluar si las sinapsis excitatorias que se establecen en el núcleo estriado son moduladas por ADO. Centrando particular interés en A_{2A} mismo que probablemente estimulan la vía de señalización de la AMPc/PKA (proteína cinasa A), la cual se sabe es relevante para los procesos de plasticidad sináptica en el estriado

5. HIPÓTESIS

La plasticidad y/o la modulación sináptica de las MSNs de la vía indirecta, pueden ser afectadas a través de la activación o desactivación A_{2A}, esto probablemente mediante la vía AMPc/PKA.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Evaluar a través del registro de potenciales de campo, si los receptores A_{2A} presentes en el estriado, modulan la transmisión y/o plasticidad sináptica glutamatérgica del núcleo.

6.2 Objetivos Particulares

Determinar el efecto que tiene la administración de adenosina en la modulación y plasticidad corticoestriatal.

Determinar el efecto que tiene la administración de un agonista específico de A_{2A} (CGS-21680) en la modulación y plasticidad corticoestriatal.

Determinar el efecto que tiene la administración de un antagonista específico de A_{2A} (SCH-58261) en la modulación y plasticidad corticoestriatal.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Preparación y preservación de las rebanadas

Se utilizaron ratones machos de la cepa C57 BL/6, de 35-40 días de edad, los cuales pesaban entre 10-13gr. Estos fueron colocados en una cámara de anestesia (éter etílico), una vez anestesiados, fueron sacrificados mediante decapitación. Posteriormente se procedió a realizar la extracción del cerebro, rápidamente se colocó en líquido cerebro espinal artificial (**Krebs**) a 4°C,

con un pH de 7.4; los componentes de esta solución fueron: Cloruro de Calcio (2mM), Cloruro de Potasio (3mM), Cloruro de Magnesio (1mM), Cloruro de Sodio (125 mM), Bicarbonato de Sodio (26 mM), Tiourea (0.2mM), Glucosa (11.0mM), Ácido Ascórbico (0.20mM). El cerebro fue retirado del Krebs, una vez fuera se retiraron bulbos olfatorios y cerebelo, a la porción restante se le dividió en hemisferios y estos fueron colocados en un vibratomo (1000 Plus, Pelco 102, Ted Pella, INC), para finalmente realizar cortes sagitales de 400 μ m. Una vez obtenidas las rebanadas, estas se mantuvieron sumergidas en solución Krebs oxigenado con una mezcla de 95% O₂ y 5% CO₂ y a temperatura ambiente.

7.2 Registro electrofisiológico y parámetros de la estimulación

Las rebanadas fueron colocadas en la cámara de registro, donde el Krebs fue gasificado constantemente con una mezcla de 95% O₂ y 5% CO₂ manteniéndose en perfusión constante. Se colocaron dos electrodos sobre la rebanada, uno de estimulación (cerca del cuerpo calloso) y uno de registro dentro del área del estriado, estos electrodos tuvieron una distancia aproximada de 0.3-0.5 mm entre sí. El protocolo de pulso pareado fue utilizado para analizar cambios pre o postsinápticos tanto en la modulación de la liberación del neurotransmisor, como en la plasticidad. La LTD fue generada mediante el suministro de tres trenes de estimulación HFS de 3 segundos de duración, a 100Hz durante intervalos de 20 segundos.

7.3 Fármacos

Tanto los experimentos de modulación como los de plasticidad se llevaron a cabo en presencia de bicuculina a una concentración de 10 μ M, con objeto de bloquear el componente GABAérgico de la espiga poblacional.

El protocolo utilizado para confirmar la modulación consistió en realizar un registro durante un periodo estable de tiempo (control), una vez demostrada su estabilidad, se prosiguió a la activación de los receptores de ADO (de manera no específica) utilizando una concentración de 10 μ m de ADO (Song, 2000), para la activación específica de los receptores A_{2A} se usó el fármaco CGS-21680 a una concentración de 1.0 μ m (Blum, 2003; Shindou, 2008) y para el bloqueo de los mismos se utilizó el fármaco SCH-58261 a una concentración de 1.0 μ m (Tebano, 2002). Por otra parte para denotar el efecto en la plasticidad se realizó un control

estable posterior a la administración de cada uno de los fármacos a las concentraciones antes mencionadas, después de haberse demostrado su estabilidad, se administró un tren de alta frecuencia para proseguir con el registro.

7.4 Análisis estadístico

La prueba realizada para el análisis estadístico fue un test Shapiro-Wilk tanto en el caso de la modulación y como en la plasticidad.

8. RESULTADOS

8.1 Registro de la Actividad Glutamatérgica Cortico-Estriatal

En todos los experimentos se llevó a cabo una curva de amplitud contra voltaje, con el objeto de averiguar el umbral de estimulación necesario para obtener la amplitud media de las espigas poblacionales en el estriado. De este modo la respuesta no se saturó y así fue posible apreciar claramente los cambios en la amplitud ocasionados por la aplicación de los tratamientos (**Figura 9**).

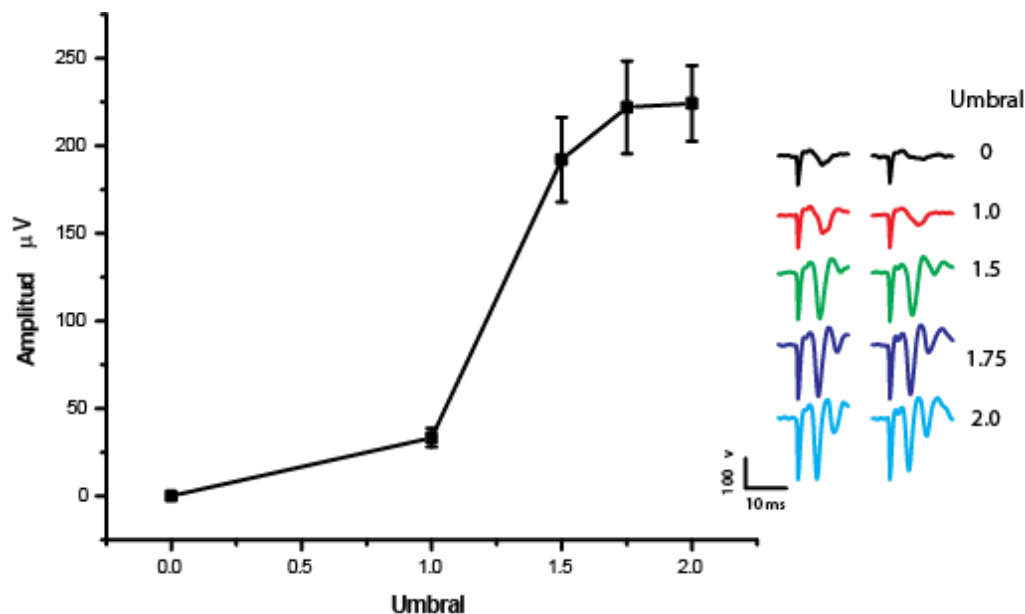


Figura 9. Curva amplitud contra voltaje

Curva representativa en la que se muestra la intensidad necesaria para evocar la mitad de la respuesta máxima de los potenciales poblacionales de S1. La intensidad de la estimulación es expresada en umbral y la amplitud en μV . Se puede apreciar que a

partir de 1.5 veces umbral la respuesta llega a su máximo y no hay gran diferencia entre el penúltimo y el último umbral, esto debido a que la respuesta ya fue saturada a partir del umbral 1.75. La mitad de la amplitud máxima se encuentra entre 1.0 y 1.5

umbral. A la derecha se muestran los trazos representativos del S1 y el S2 en la curva, cada trazo se encuentra con su respectivo umbral necesario para evocar las distintas amplitudes de respuesta (n=5).

Para demostrar que los cambios observados en la amplitud de la respuesta poblacional fueran correspondientes a los efectos de los fármacos y no a inestabilidades de los experimentos o situaciones meramente artefactuales, se realizaron registros de cursos temporales control de larga duración (**Figura 10**), de este modo, podemos asegurar que es posible generar registros estables, propios de tejidos sanos.

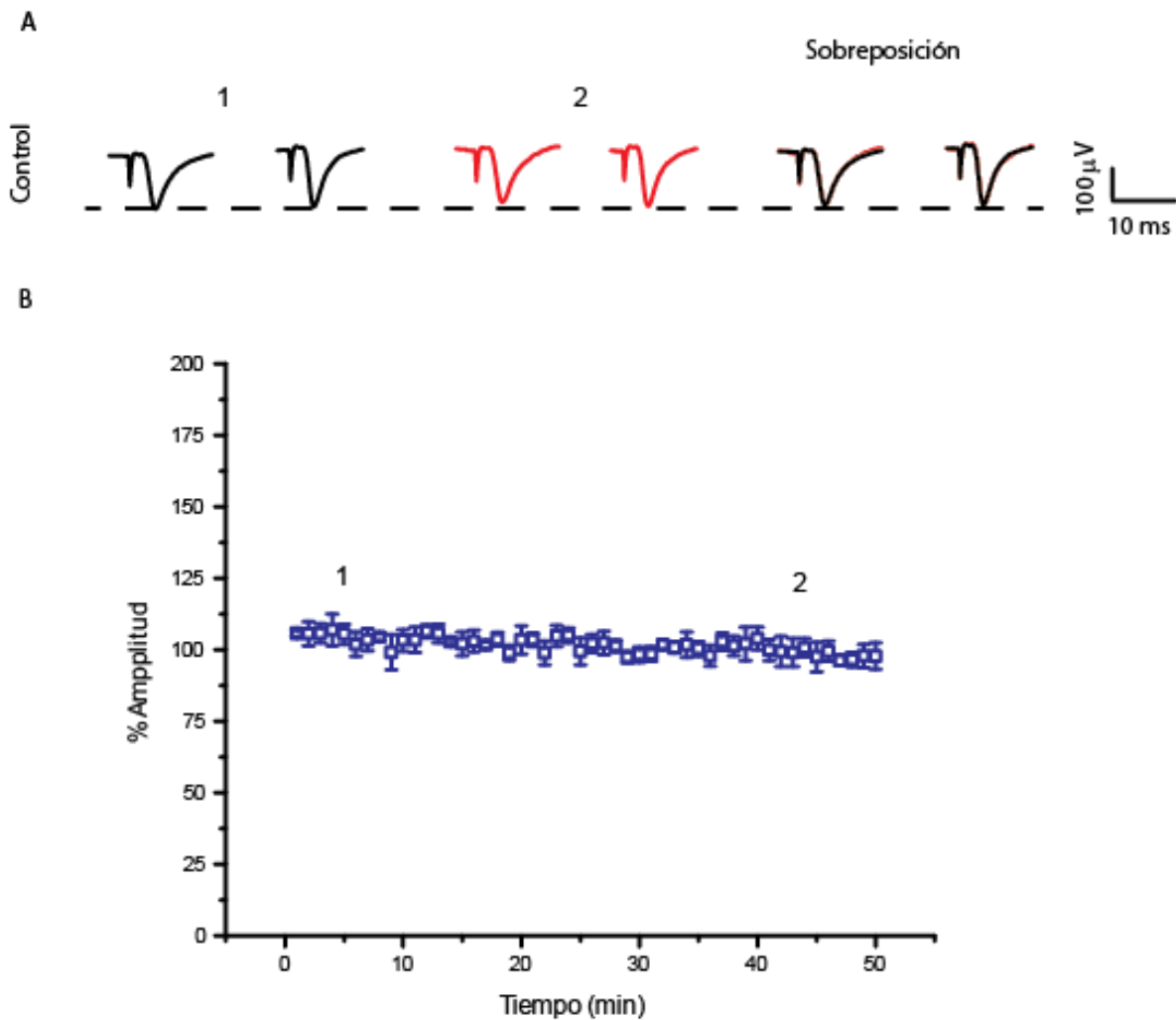


Figura 10. Control largo del pulso temporal de potenciales poblacionales cortico-estriatales. A) Trazos representativos del curso temporal a diferentes tiempos acompañados de su sobreposición **B)** Curso temporal estable a lo largo de 50 min. Los números que acompañan a cada trazo corresponden a los 5 y 45 minutos esquematizados previamente en **A)**. (n=5).

8.2 Efecto del agonismo y antagonismo de los receptores A_{2A} en la modulación y plasticidad sináptica de las Conexiones Cortico-Estriatales

Para evaluar el efecto de los A_{2A} en la modulación y la plasticidad glutamatérgica de las conexiones corticoestriatales, se utilizó un agonista no específico de dicho receptor ADO (10 μm) un agonista específico, el CGS (1.0 μM) y un antagonista SCH-58261 (1.0 μM). Se realizó un protocolo de registro que permitió vislumbrar el efecto de cada uno de los fármacos por separado.

8.3 Efecto de ADO en modulación y plasticidad en la sinapsis corticoestriatal

Con la finalidad de investigar el tipo de modulación generada debido a la aplicación de ADO, se registró un control estable durante 10 minutos, posteriormente se colocaron 10 μm de ADO, este fármaco dio pie a un incremento en la amplitud de la respuesta sináptica ($4.6 \pm 1.2\%$) dicho cambio fue significativamente diferente ($P < 0.001$) (**Figura 11 B**). La esquematización del cambio es visible en (**Figura 11 A**). Por último, para conocer la ubicación del mecanismo de acción, se realizó un análisis de relación entré S2/S1 (Control 1.38 ± 0.36 ; ADO 1.32 ± 0.31) éste arrojó como resultado que la modulación producida en el estriado a través de ADO fue propiciada por un mecanismo presináptico, ya que hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) (**Figura 12**).

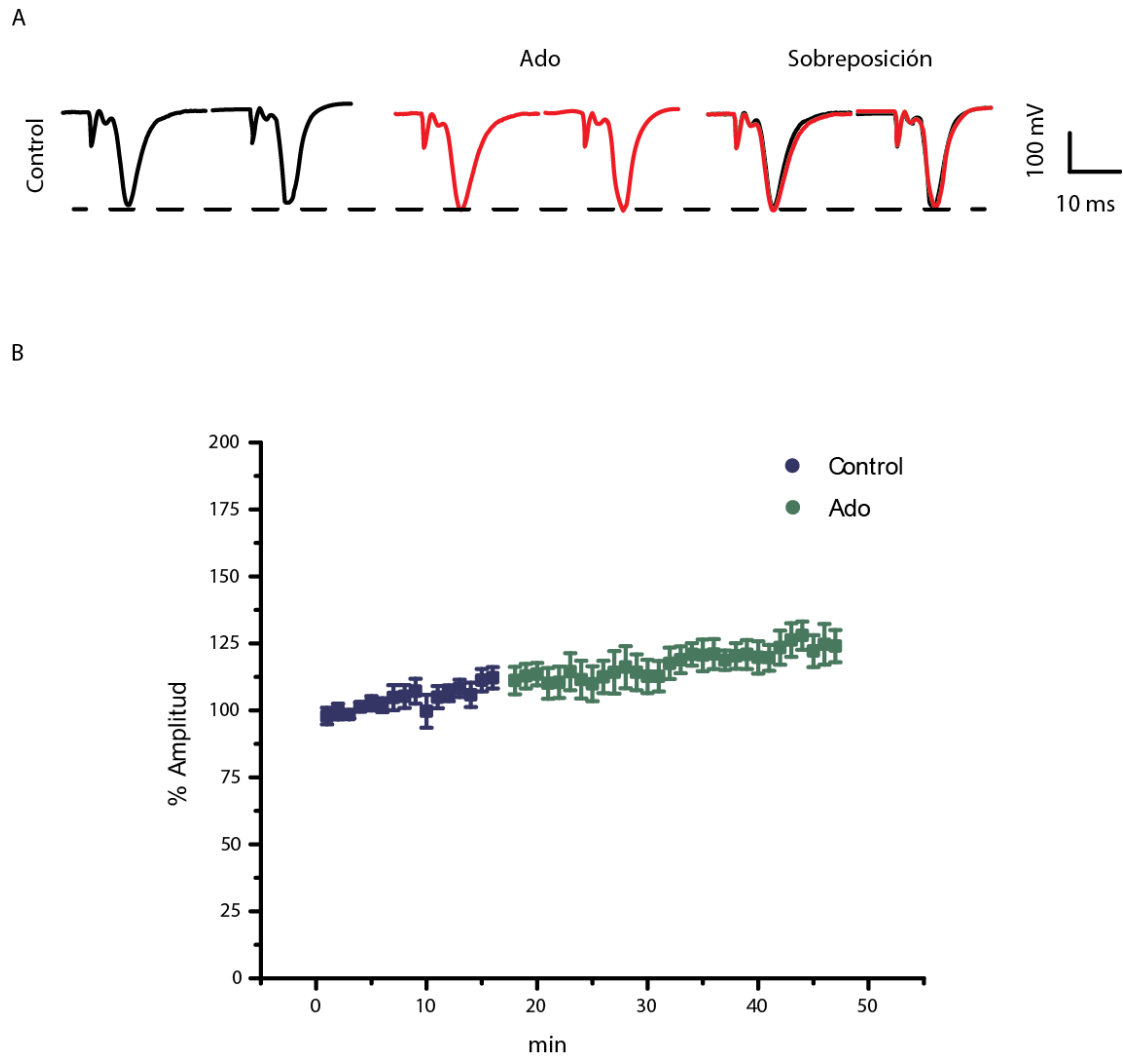


Figura 11. Modulación de adenosina. A) Trazos representativos del curso temporal y su sobreposición B) Porcentaje de la amplitud de los potenciales de S1 antes y durante la administración de ADO 10 μ m. (n=5).

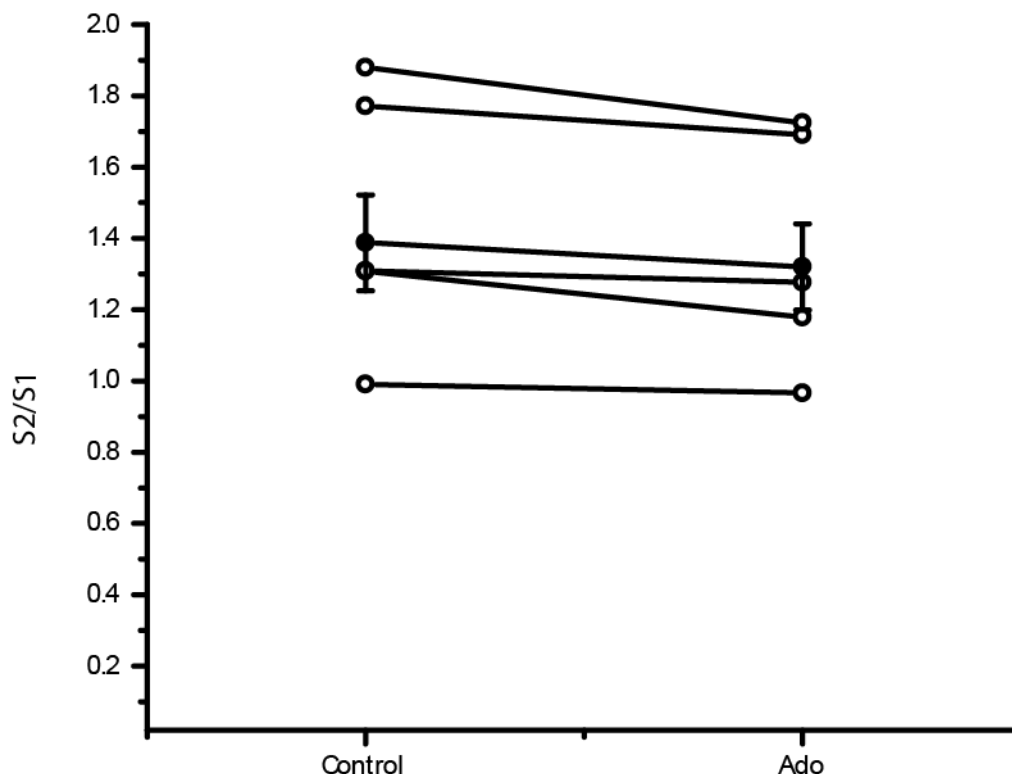


Figura 12. Relación del protocolo por pulso pareado (S2/S1) de la modulación de adenosina. Aquí se muestran el cociente S2/S1 de los datos obtenidos en los últimos 10 minutos, antes y después de la administración de ADO 10 μ m. Los círculos vacíos son experimentos individuales y los sólidos son el promedio. En la **Figura 11 a)** se pueden apreciar los trazos representativos del pulso pareado. (n=5).

En cuanto a la plasticidad, se aplicó un tren de alta frecuencia en registros sin fármacos, los cuales presentaron una disminución significativa en la respuesta ($-66.15 \pm 1.57\%$) ($P < 0.001$) a diferencia de lo sucedido durante la aplicación de HFS en presencia de ADO, donde el resultado fue el contrario, ya que se incrementó significativamente la amplitud de la espiga poblacional ($25\% \pm 5\%$) ($P < 0.001$) (**Figura 13**) en la **Figura 13 A)** y **B)** podemos apreciar claramente la disminución y el incremento de amplitud respectivamente. En lo concerniente al cociente S2/S1 el Control (**Figura 14 A)** (Control 1.01 ± 0.19 ; HFS 0.98 ± 0.13) no tuvo diferencia significativa ($P > 0.05$), la misma situación sucedió en la plasticidad de ADO (**Figura 14 B)** ($P > 0.05$) lo que sugiere que la plasticidad en ambos casos se debe a un mecanismo postsináptico (ADO 1.28 ± 0.25 ; HFS 1.22 ± 0.29).

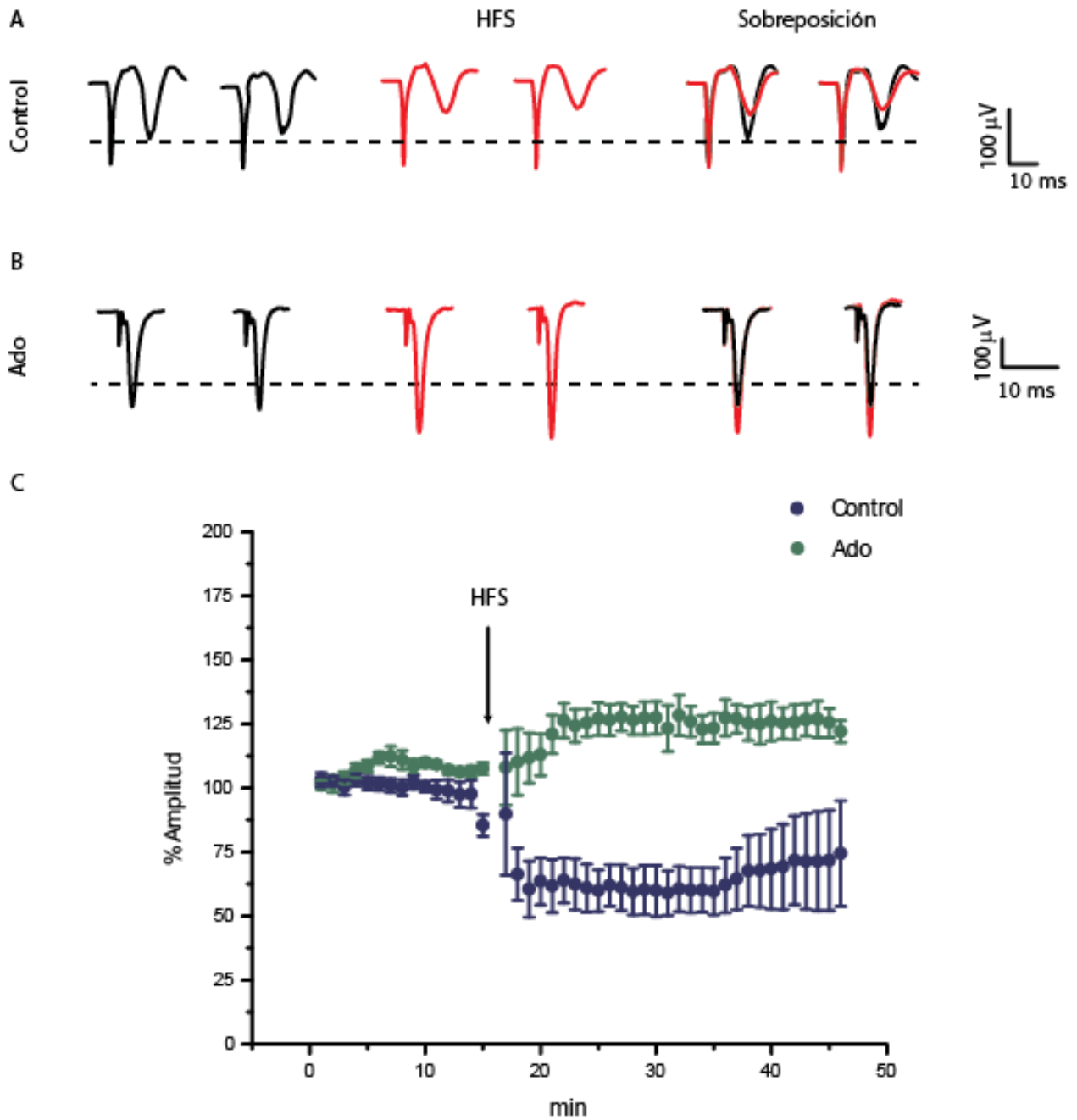


Figura 13. Plasticidad sináptica en presencia y ausencia de adenosina. Trazos representativos del curso temporal y su sobreposición en los cuales se muestran los cambio de amplitud de los potenciales de campo antes y después de la aplicación HFS en condiciones control A), y en presencia de ADO 10 μ m B), Porcentaje del curso temporal antes y después del HFS en condición control C) (n=4 y n=5).

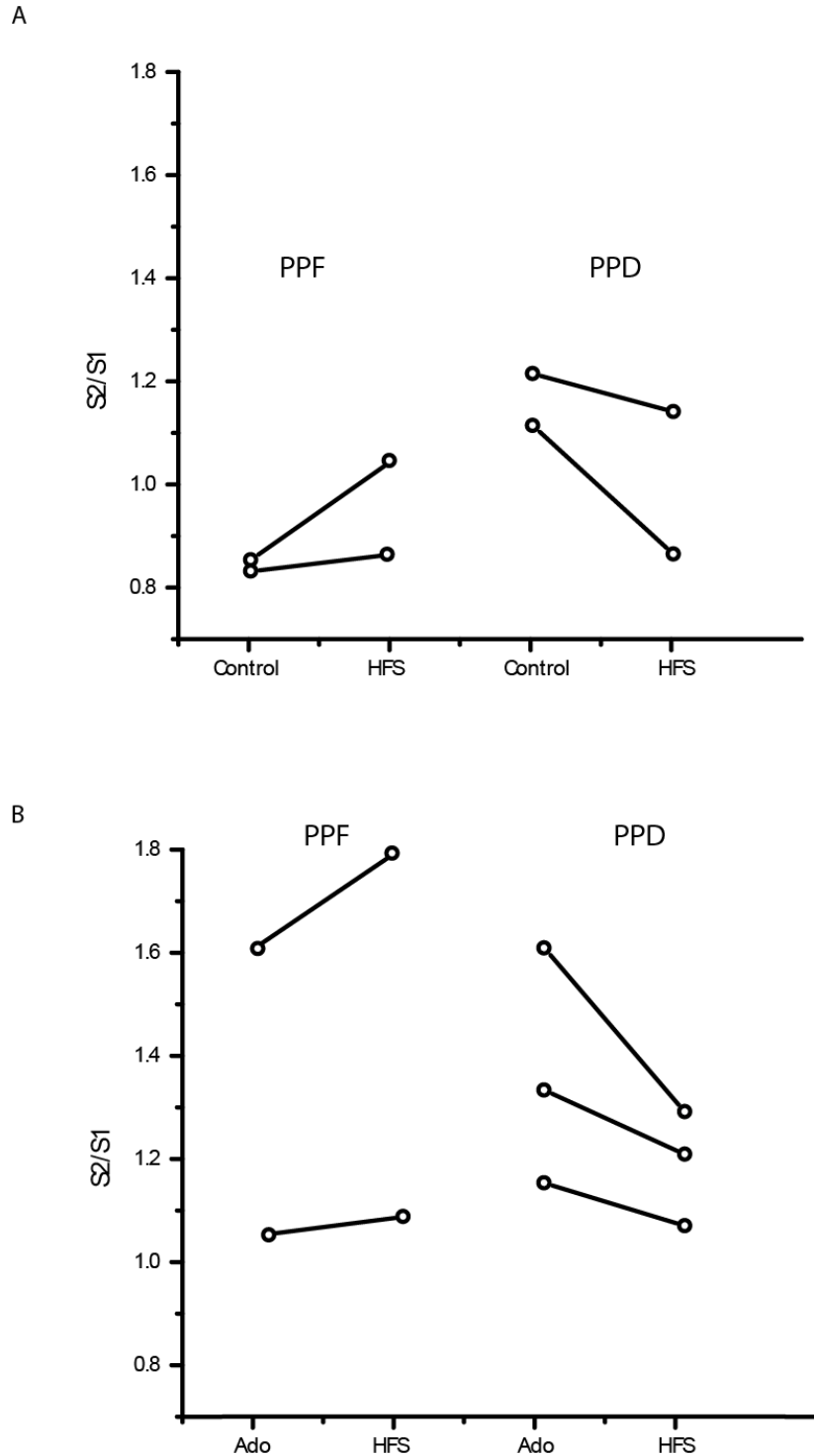


Figura 14. Relación del protocolo de pulso pareado de la plasticidad sináptica en presencia y ausencia de adenosina. Aquí se muestra el cociente del protocolo de pulso pareado ($S2/S1$) antes y después de la administración un tren de alta frecuencia tanto en condiciones control **A**) y en presencia de ADO ($10\mu\text{m}$) **B**). Los círculos vacíos representan experimentos individuales. En la **Figura 13 A**) y **B**) se pueden apreciar los trazos representativos del pulso pareado. (Control HFS $n=4$; ADO HFS $n=5$) (PPF es facilitación por pulso pareado; PPD es depresión por pulso pareado).

8.4 Efecto de un agonista (CGS-21680) en la modulación y plasticidad sináptica de las conexiones cortico-estriatales

En presencia del agonista CGS-21680, se incrementó la amplitud de la respuesta ($14.8 \pm 4\%$) este cambio fue significativo ($P < 0.001$) (**Figura 15 A y B**). En cuanto al mecanismo que provocó la modulación, el análisis del protocolo de pulso pareado sugiere que el origen fue presináptico ya que hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) (Control $1.36 \pm 0.18\%$; CGS $1.21 \pm 0.15\%$) (**Figura 16**).

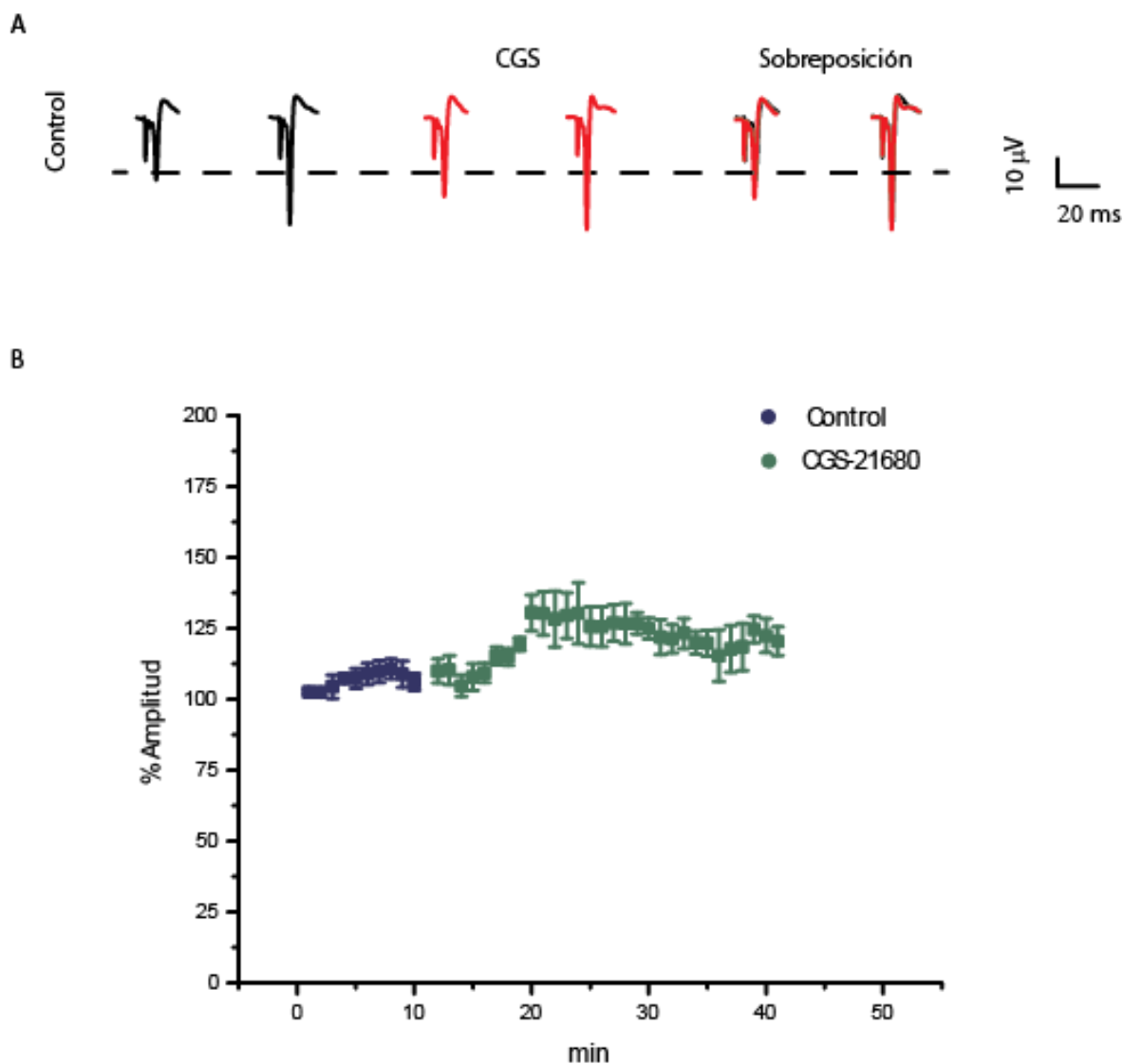


Figura 15. Modulació de CGS-21680. **A)** Trazos representativos del curso temporal en ellos se puede apreciar que a partir de la administración del agonista se generó un incremento en la amplitud de la respuesta. **B)** Porcentaje de la amplitud de los potenciales S1 antes y después de la aplicación CGS-21680 (n=4).

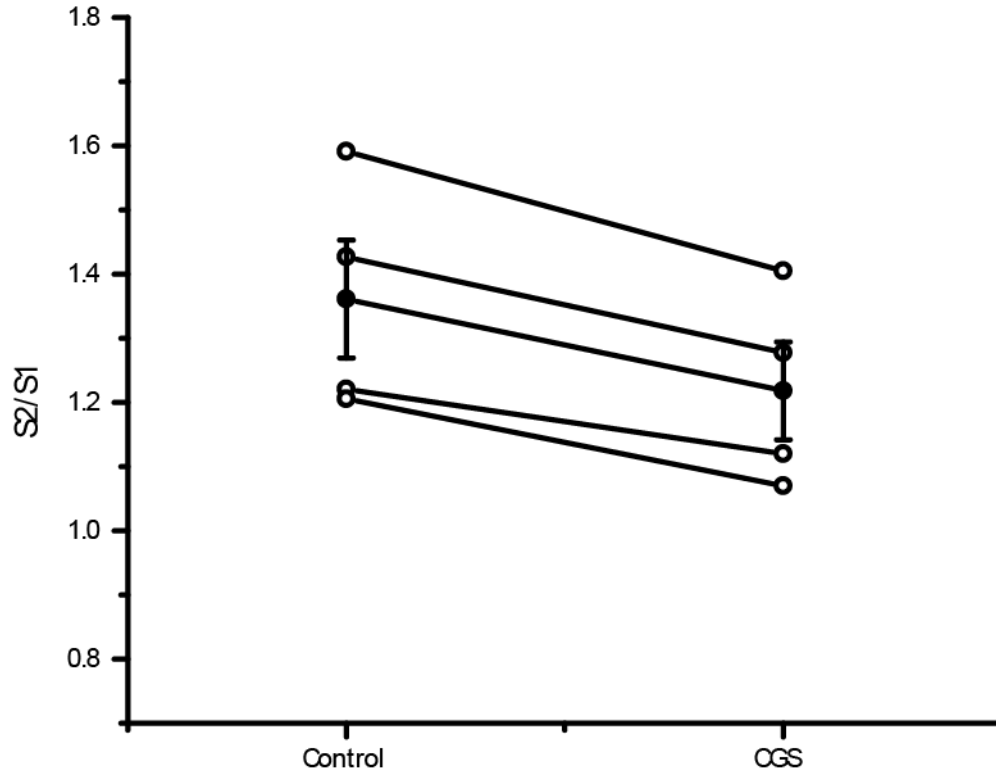


Figura 16. Relación del protocolo por pulso pareado (S2/S1) de la modulación de CGS-21680. Aquí se muestra el cociente del protocolo de pulso pareado (S2/S1) antes y después de la aplicación CGS-21680. Los círculos vacíos son experimentos individuales y los sólidos son el promedio. En la **Figura 15 A** se pueden apreciar los trazos representativos de este pulso pareado. (n=4; Prom \pm SE).

Continuando con el efecto de CGS-21680 sobre plasticidad, la aplicación de HFS a experimentos previamente tratados con agonista generó un incremento significativo en la amplitud ($13.9 \pm 7.3\%$) ($P < 0.001$) (**Figura 17 C**) esto es claramente apreciable en los trazos representativos del experimento (**Figura 17 B**) y opuesto a lo sucedido durante la aplicación de HFS en condiciones control (**Figura 17 A**), donde disminuyó la amplitud en $66.15 \pm 1.57\%$ ($P < 0.001$). En lo que respecta al análisis de cociente S2/S1 (**Figura 18**), este demostró que no hay diferencia significativa en el HFS control (**Figura 18 A**) ($P > 0.05$) (Control 1.01 ± 0.19 ; HFS 0.98 ± 0.13) ni en HFS con CGS (**Figura 18 B**) ($P > 0.05$) (CGS 1.17 ± 0.06 ; HFS 1.12 ± 0.09).

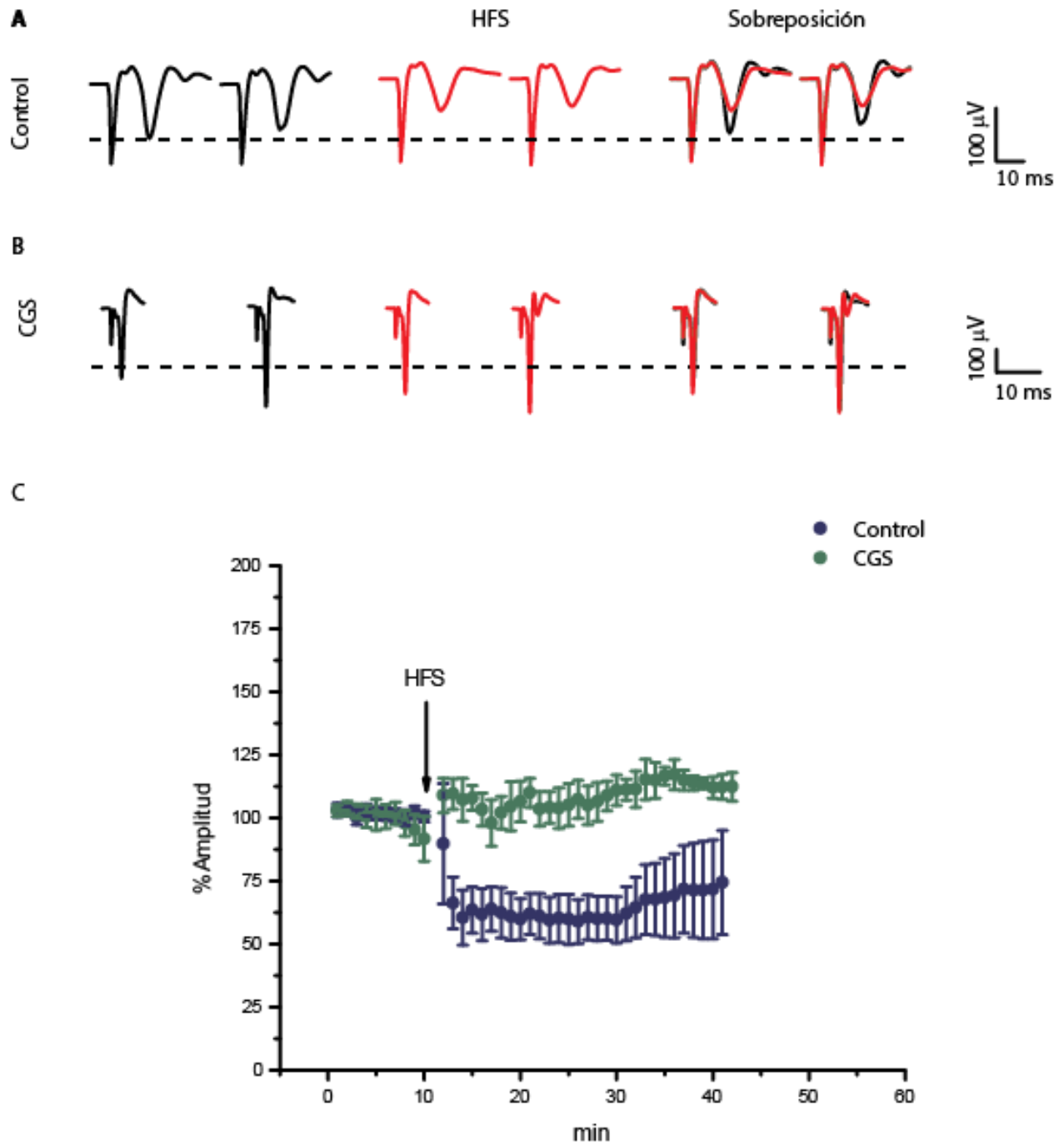


Figura 17. Plasticidad sináptica en presencia y ausencia de CGS-21680. Trazos representativo del curso temporal y su sobreposición en los cuales se muestran los cambios de amplitud de los potenciales de campo antes y después de la aplicación HFS en condiciones control **A**), y en presencia de CGS-21680 **B**), Porcentaje del curso temporal antes y después del HFS en condición control y en presencia de CGS-21680 **C**) (n=5; Prom \pm SE).

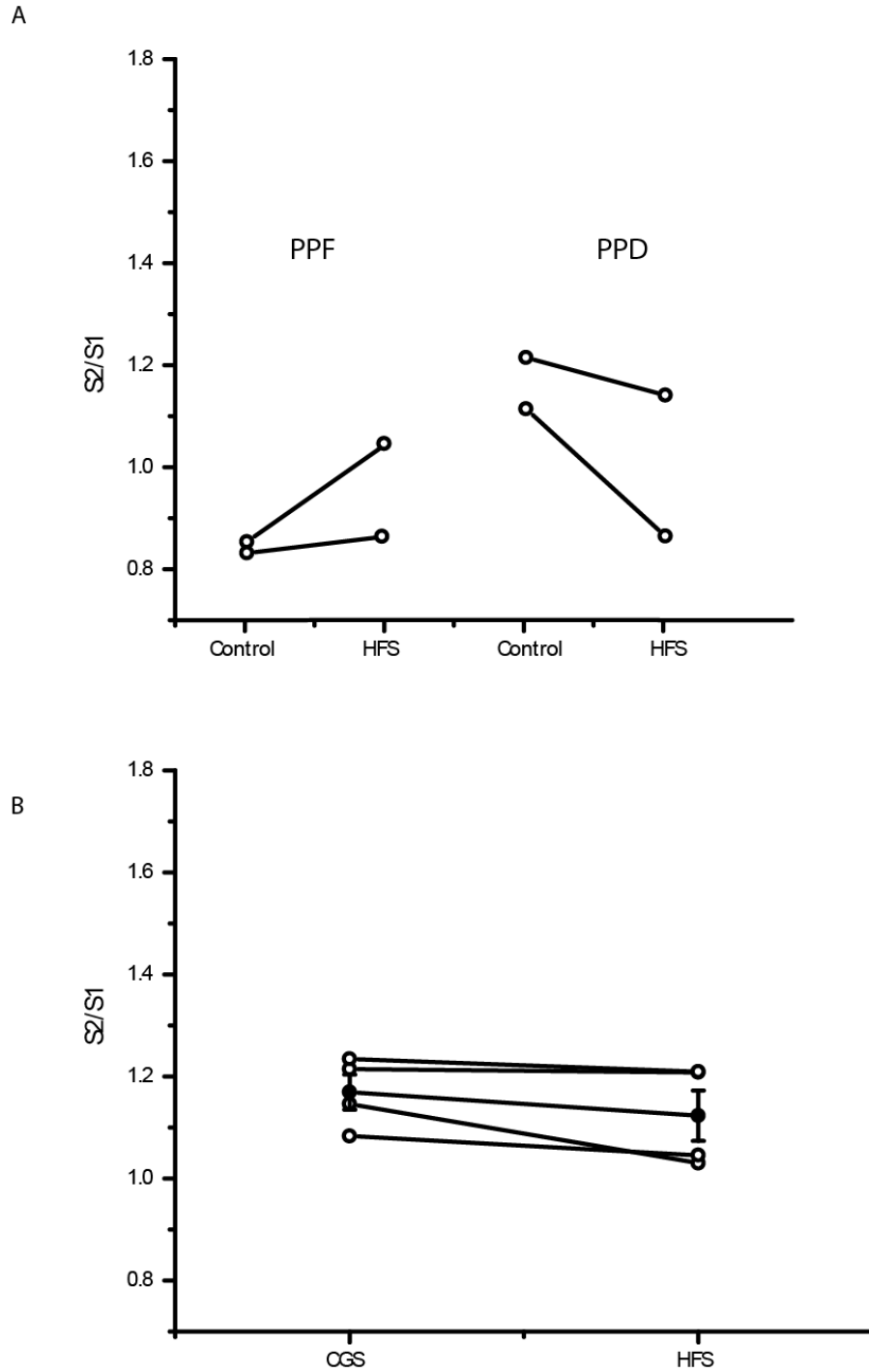


Figura 18. Relación del protocolo de pulso pareado de la plasticidad sináptica en presencia y ausencia CGS-21680. Aquí se muestra el cociente del protocolo de pulso pareado (S2/S1) antes y después de la administración un tren de alta frecuencia en condiciones control **A**) o en presencia de CGS-21680 **B**). Los círculos vacíos son experimentos individuales y lo sólidos son el promedio (Control HFS n=5; CGS HFS n=4). En la **Fig 17 A**) y **B**) se pueden apreciar los trazos representativos del pulso pareado (PPF es facilitación por pulso pareado; PPD es depresión por pulso pareado).

8.5 Efecto de un antagonista (SCH-58261) en la modulación y plasticidad sináptica de las conexiones cortico-estriatales

En lo que refiere al efecto modulador de SCH-58261 su administración provocó un incremento en la amplitud de la respuesta sináptica ($21.8 \pm 2.3\%$) mismo que fue significativo ($P < 0.001$) (**Fig. 19**) esto es claramente apreciable en los trazos representativos del experimento mostrados en la **figura 19 B)** contrario a lo sucedido en el control, el mecanismo por el cual se generó el cambio en la respuesta (Control $1.12 \pm 0.26\%$; SCH-58261 $1.02 \pm 0.28\%$) fue presináptico según la relación de pulso pareado ($P < 0.05$) (**Figura 20**).

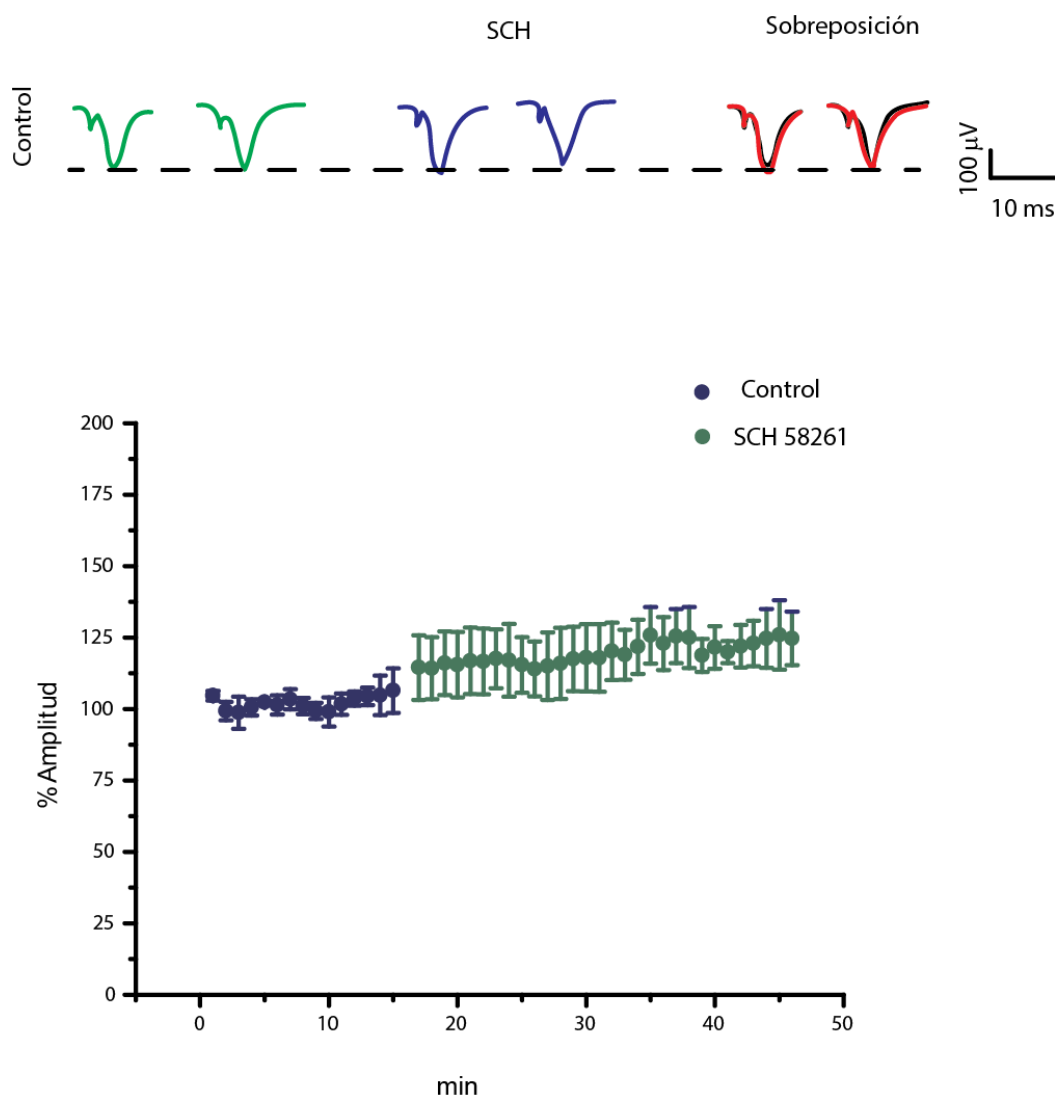


Figura 19. Modulación de SCH 58261 A) Trazos representativos del curso temporal en ellos se puede apreciar que a partir de la administración de SCH-58261 se generó un incremento en la amplitud de la respuesta sináptica. B) Porcentaje de la amplitud de los potenciales S1 antes y después de la aplicación SCH-58261 (n=4).

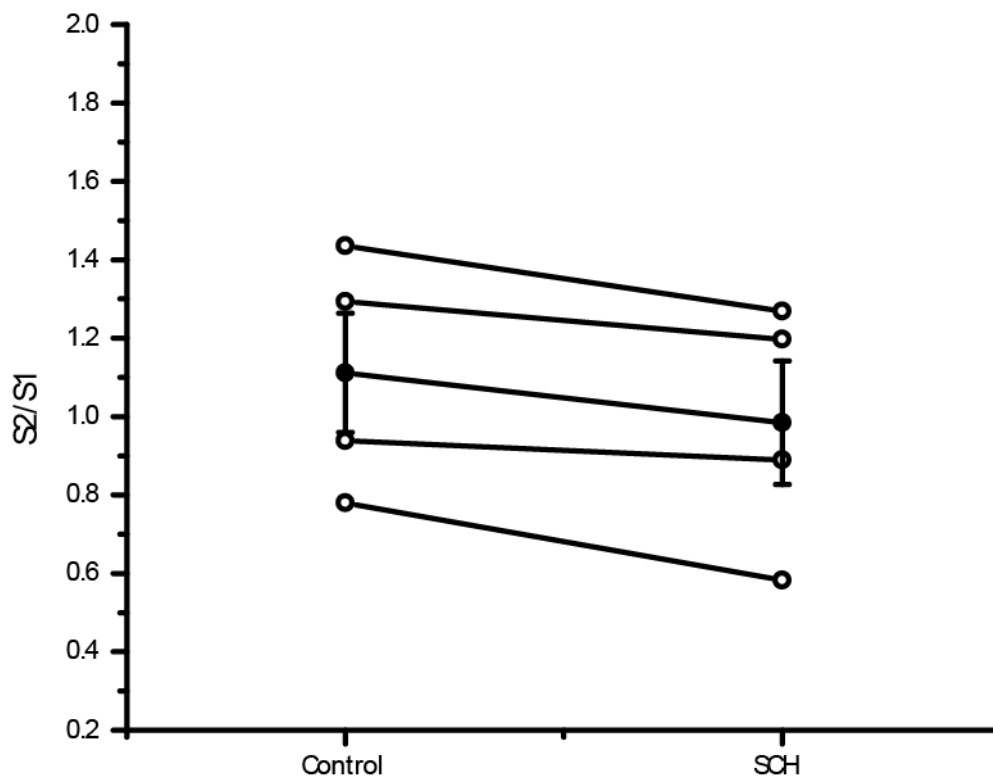


Figura 20. Relación del protocolo por pulso pareado de la modulación SCH-58261. Aquí se muestra el cociente del protocolo de pulso pareado (S2/S1) antes y después la administración de SCH-58261. Los círculos vacíos son experimentos individuales y los sólidos son el promedio. En la **Figura 19 A) y B)** se pueden apreciar los trazos representativos del pulso pareado. (n=4).

En cuanto al efecto que tuvo el antagonista en la plasticidad, al aplicarse SCH-58261 se generó un incremento en la amplitud de la respuesta ($35.6 \pm 3.2\%$) (**Figura 19 A**) este incremento fue significativo ($P < 0.001$) y una vez más contrastante con la disminución presentada en el control de HFS, la relación del pulso pareado sugiere que la modulación de SCH tiene un origen presináptico en condiciones control (Control 1.01 ± 0.19 ; HFS 0.98 ± 0.13) ($P > 0.05$), igualmente en lo concerniente a la plasticidad en presencia de SCH ($P < 0.05$) (Control $1.09 \pm 0.19\%$; SCH $1.03 \pm 0.19\%$) (**Figura 20**).

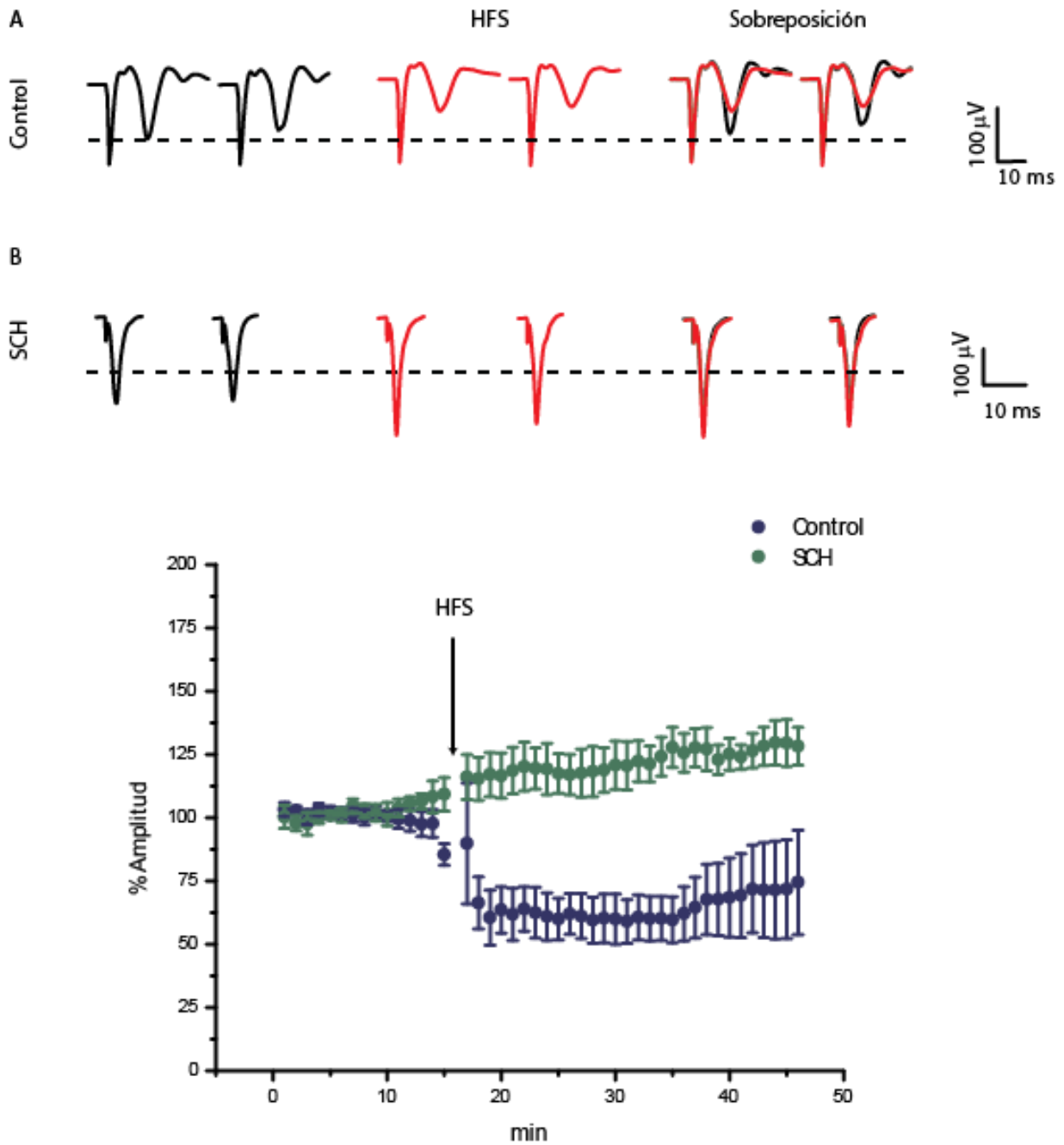
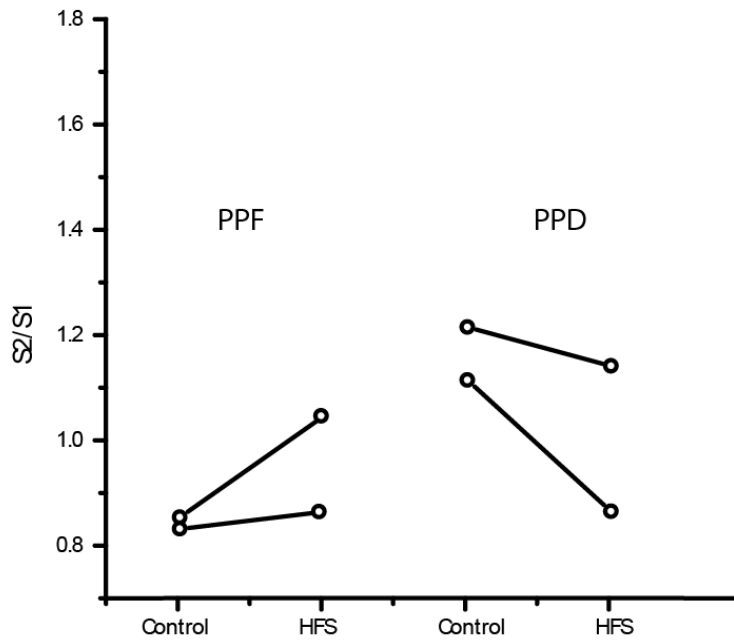


Figura 21. Plasticidad sináptica en presencia y ausencia de SCH-58261. Trazos representativo del curso temporal y su sobreposición en los cuales se muestran los cambios de amplitud de los potenciales de campo antes y después de la aplicación HFS en condiciones control A), y en presencia de SCH. Porcentaje del curso temporal antes y después del HFS en condición control y en presencia de SCH-58261 C) (n=5; Prom \pm SE).

A



B

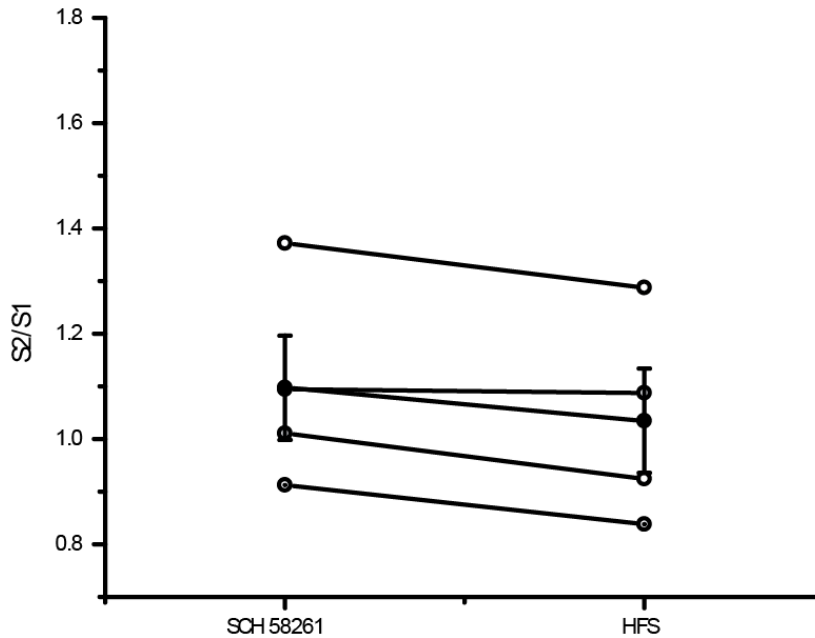


Figura 22. Relación del protocolo de pulso pareado de la plasticidad sináptica en presencia y ausencia de SCH-58261 sináptica Aquí se muestra el cociente del protocolo de pulso pareado ($S2/S1$) antes y después de la administración de un tren de alta frecuencia en condiciones control **A**) y presencia de SCH-58261 **B**). Los círculos vacíos son experimentos individuales y los sólidos son el promedio. En la Figura 21 **A**) y **B**) se pueden apreciar los trazos representativos del pulso pareado. (Control HFS $n=5$; SCH HFS $n=4$) (PPF es facilitación por pulso pareado; PPD es depresión por pulso pareado).

9. DISCUSIÓN

9.1 Modulación

La aplicación de la ADO generó una modulación positiva, es decir incrementó la amplitud de la respuesta sináptica, misma que no tuvo un efecto estadísticamente significativo, esto probablemente se debe a la existencia de transportadores de ADO bidireccionales y noconcentrativos, los cuales se encargan (hasta cierto punto) de mantener el equilibrio en la concentración de ADO intra o extracelular (Geiger, 1991 y Riberio 2009). Por otro lado CGS produjo una modulación positiva mucho más pronunciada, misma que pudo ser generada de la siguiente manera; a través de A_{2A} se bloqueó D₂, D₂ no pudo activar PLC y por lo tanto PLC no pudo activar PP2B (Calcineurina proteína fosfatasa B2), esta última proteína al no estar activa, no pudo inhibir la entrada de calcio a través de los canales dependientes de voltaje tipo L, al mismo tiempo A_{2A} activó G_s, el cual activó AC para finalmente activar PKA (**Figura 23**) (Evans Morgan 2003, Leenders y Sheng 2005) o alternativamente a través de la facilitación de la liberación del neurotransmisor vía de PKC (Fredholm et. Al. 2005) esto es propio de mecanismos presinápticos, mismos que concuerdan con los resultados de la relación de pulso pareado. Además se sabe que en el estriado, los A_{2A} están localizados en la terminal glutamatérgica y su activación incrementa la liberación de glutamato (Ciruela et al, 2006).

Hay que considerar que el A_{2A} también puede modular la excitabilidad neuronal y la transmisión sináptica, esto mediante la modulación de las propiedades intrínsecas tales como el balance excitatorio y/o las entradas inhibitorias, así se controlaría la actividad de las neuronas estriatopales estriatopales encefalinérgicas. Según Wilson y Kagawashi 1996 los estados del potencial de la neurona sufren cambios transitorios en modelos *in vivo*, dichos cambios requieren de canales iónicos, los cuales seguramente son regulados por transmisores estriatales que actúan a través de receptores acoplados a proteínas G como D₂ y A_{2A}. Según Azad, en 2006 existe una gran probabilidad de que la activación de A_{2A} inicie un mecanismo dependiente de PKA, el cual antagoniza de manera intermembranal con la interacción de D₂. También se ha visto, un mecanismo similar, el cual fue propuesto para explicar interacción de estos receptores en una línea celular de neuroblastoma, donde la estimulación de D₂ minimizaba la despolarización inducida por el flujo de Ca²⁺ a través de canales dependientes de voltaje y la estimulación de A_{2A} antagonizó el efecto de D₂ (Salim et al 2000).

En lo concerniente a SCH-58261, éste propició una modulación positiva de origen postsináptico, que posiblemente se generó debido al incremento de Ca⁺² a través de los canales de NMDA, según Popoli et al., 2002 y Tebano et al., 2002, este antagonista evita la liberación de glutamato hacia la postsinapsis e incrementa los niveles de calcio intracelular; sin embargo, en el presente estudio, la relación de pulso pareado sugiere que el mecanismo modulador es presináptico.

Se ha demostrado a nivel bioquímico, que la estimulación A_{2A} puede producir un decremento en la afinidad de los agonistas de D₂. Esta interacción implica que la estimulación de A_{2A} produce algún tipo de modificación del receptor D₂, en lo concerniente a sus propiedades de unión. Esta interacción A_{2A}-D₂, seguramente requiere de la formación de heterómeros o por lo menos de una estrecha proximidad entre ambos receptores. Cabe destacar que dicha interacción se presenta también en tejido humano y en distintas líneas celulares, siendo estas últimas, herramientas clave para poder detallar el crosstalk (intercomunicación) entre sus respectivas vías de señalización (Fig. 21).

Asimismo se ha demostrado la existencia de una interacción recíproca entre D₂- A_{2A}, al nivel de la AC, en la cual el receptor D₂, a través del acoplamiento con proteínas Gi/0 inhibe la activación de la AC, por la estimulación de A_{2A}, mismo que está asociado con proteínas Gs/olf, de este modo, dicha interacción puede ser sinérgica bajo ciertas condiciones experimentales, con la potenciación de la activación de D₂, el agonista de A_{2A} inicia la acumulación de AMPc. Esto parece depender del tipo de la AC involucrada y también podría depender de la estequiometría de A_{2A} y los receptores D₂.

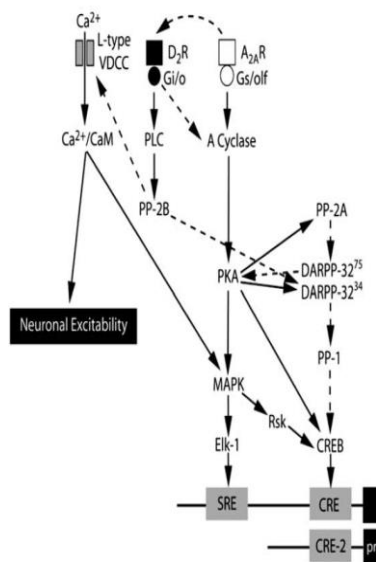


Figura 23. Mecanismos involucrados en múltiples interacciones bioquímicas entre receptores D₂ y A_{2A}.

Donde A Cyclase es Adenilato ciclasa, CRE es Elemento responsable de AMP, CREB es Proteína de unión en respuesta al elemento de AMP cíclico, CaM es calmodulina, CaMK calmodulincinasa, Darpp3275 y Darpp-3234 Fosfoproteína regulada por dopamina y AMP cíclico, 32 kDa fosforilación en treonina 75 y 34 respectivamente, elk-1 es miembro de la familia del factor de complejo ternario de factores de transcripción, L-type VDCC es canales de calcio dependientes de voltaje, MAPK Proteína cinasa activada por mitogen, PKA es proteína cinasa A; PLC es fosfolipasa C; PP-1, PP-2^a y PP-2B son proteínas fosfatasa 1, 2^a y 2B (calcineurina), respectivamente; Rsk, Cinasa ribosomal S6, SER es elemento de respuesta al suero. Las flechas sólidas y punteadas corresponden a efectos estimuladores e inhibitorios respectivamente (explicación en el texto) (Tomado de Gerfen, 2011)

No obstante, la AC predominante en el estriado muestra una interacción antagónica de coestimulación de receptores acoplados a Gi/o y Gs/olf. Recientemente se ha demostrado que en el estriado de ratas existe una relación antagónica entre A_{2A} y D₂ al nivel de la AC. Sobre la misma línea pero en distintos sistemas celulares, el grupo III de las ACs también ha demostrado estar relacionada en la activación de la AC a través de receptores acoplados a Gs.

Como consecuencia de la interacción antagónica del receptor D₂-A_{2A} a nivel ciclasa-ciclasa, la estimulación del receptor D₂ inhibe los productos de A_{2A}, la acumulación de AMPc mediada por el receptor y la activación de la proteína quinasa A (PKA), tales como la fosforilación (en la treonina 34) de la dopamina y fosfoproteína regulada por AMPc 32 kDa (DARPP-32), fosforilación de CREB y la activación de MAPK, con el consecuente decremento en la expresión de los genes tempranos como es C-fos u otros genes como la preproencefalina.

La activación de los receptores D₂ no solo inhibe la AC, también utiliza otras vías de señalización, tales como la activación de fosfolipasa c (PLC), la cual activa proteínas fosfatasa 2b (PP-2B/calcineurina), que inactivan los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L (**L-type VDCCs**). Se ha demostrado que la inactivación de los VDCCs de tipo L son el principal mecanismo involucrado en la supresión mediada por el receptor D₂ de la actividad estriatopalidal. Hay que hacer hincapié en que receptores D₂ transfectados a una línea celular de

neuroblastoma humano (SHSY5Y) que constitutivamente expresan VDCCs tipo L y receptores A_{2A}, un agonista de ADO contrarresta la inhibición del flujo de calcio evocado por KCl mediado por D₂. Ese efecto muestra una probable relación de antagonismo intemembranal en entre A_{2A}-D₂. Además, los canales de calcio tipo L no solamente ejercen un papel modulador en excitabilidad neuronal, también tienen acceso a la regulación transcripcional. Esto parece estar relacionado con la formación de complejos de calmodulina-canales de calcio dependientes de voltaje tipo L (L-VDCCs) y la consecuente activación de MAPK. La activación de la calcineurina mediada por el receptor D₂, proporciona otro mecanismo para antagonizar la señalización mediada por el receptor A_{2A}, ya que la calcineurina inactiva DARPP-32 (por desfosforilación de P-treonina/trionina 34) y los canales de calcio dependientes de voltaje (VDCCs), con la consiguiente disminución en la fosforilación de CREB y la activación de MAPK, respectivamente (**Figura 7**) (Ferré 2004).

9.2 Plasticidad

La LTD fue generada a través de la estimulación tetánica del tejido, coincidiendo con lo reportado por (Calabresi et al. 1992b), quienes además explican que el incremento de Ca⁺² intracelular se debe a la sincronización de la descarga de las neuronas postsinápticas a través de la despolarización significativa de la membrana. Esto provoca la liberación de endocannabinoides debido al incremento de la concentración de calcio mediante la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje tipo L (Adermark y Lovinger 2007b) y la activación de receptores metabotrópicos de glutamato del tipo I mGluR (Gubellini et al., 2001; Sung et al., 2001, Adermark and Lovinger, 2007a; Shen et al., 2008). Por último, cabe recalcar que según lo reportado por Shen et al, en 2008, la LTD no puede ser generada en presencia de antagonistas de CB₁ y según Calabresi en 1992, tampoco puede ser generada en presencia de quelante de Ca²⁺ así se confirma que esta se realiza mediante un mecanismo dependiente de calcio y de receptores de tipo Cb₁. Dicha LTD y la LTP de ADO presentaron tanto facilitación como depresión por pulso apareado, durante el análisis de relación S1/S2, sin embargo, son producto de un mecanismo postsináptico.

Por otro lado la aplicación de ADO y de CGS en el modelo de plasticidad, provocó una LTP, esto podría concordar con lo publicado por Dupuis et al. en 2014, en cuya publicación

explican que el mecanismo por el que se genera LTD es dependiente de la inhibición de RGS4 (un regulador de segundos mensajeros) a través de la activación de D2, así la LTP podría ser producto de la activación de A2A, el cual bloquea RGS4, quien a su vez bloquea los receptores mGlu 1/5, dejando solo los canales de calcio como fuente de liberación de cannabinoides, disminuyendo la concentración de ellos en el surco sináptico y por ende decrementando la activación del receptor Cb1 culminando en la nulidad de la LTD propia del estriado (**Figura 24**).

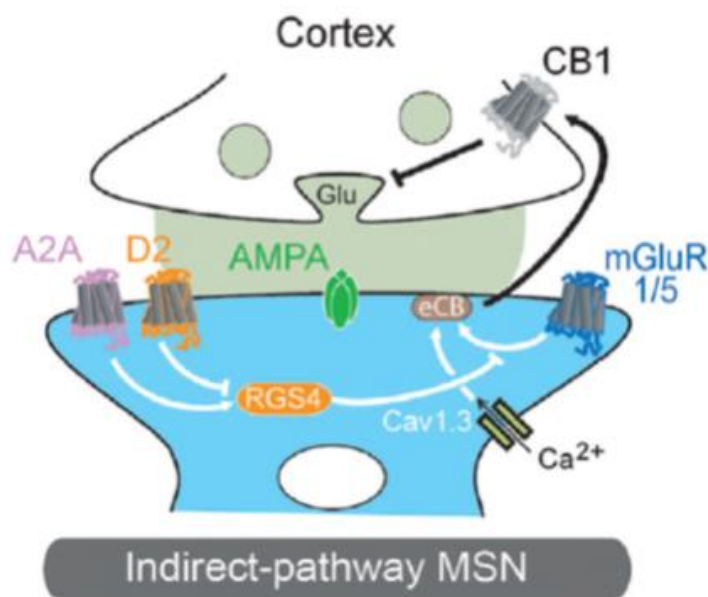


Figura 24. Mecanismos involucrados en la LTD corticoestriatal de la vía indirecta. Aquí se muestra que el mecanismo es propio de la postsinápsis, particularmente en los receptores mGluR1/5, RGS4-acoplado a los receptores D2/A2A, Cav1.3 canales de calcio dependientes de voltaje, y a la activación presináptica de los receptores CB1 receptores (Tomado de Dupuis, 2014).

Por otro lado, el origen de la LTP que se dio durante la experimentación con ADO y CGS, concuerda con lo publicado por Cerovic et al 2013, ellos concluyeron que la LTP en el estriado se genera a través de un protocolo de estimulación dependiente de los receptores NMDA. Dicha LTP de la vía indirecta es regulada negativamente por la activación de D2 y positivamente por la activación de A2A, esto a través de efectos opuestos sobre AMPc y PKA,

afectando a Darpp-32 que también es necesaria para la inducción de la LTP en la vía indirecta (Figura 25).

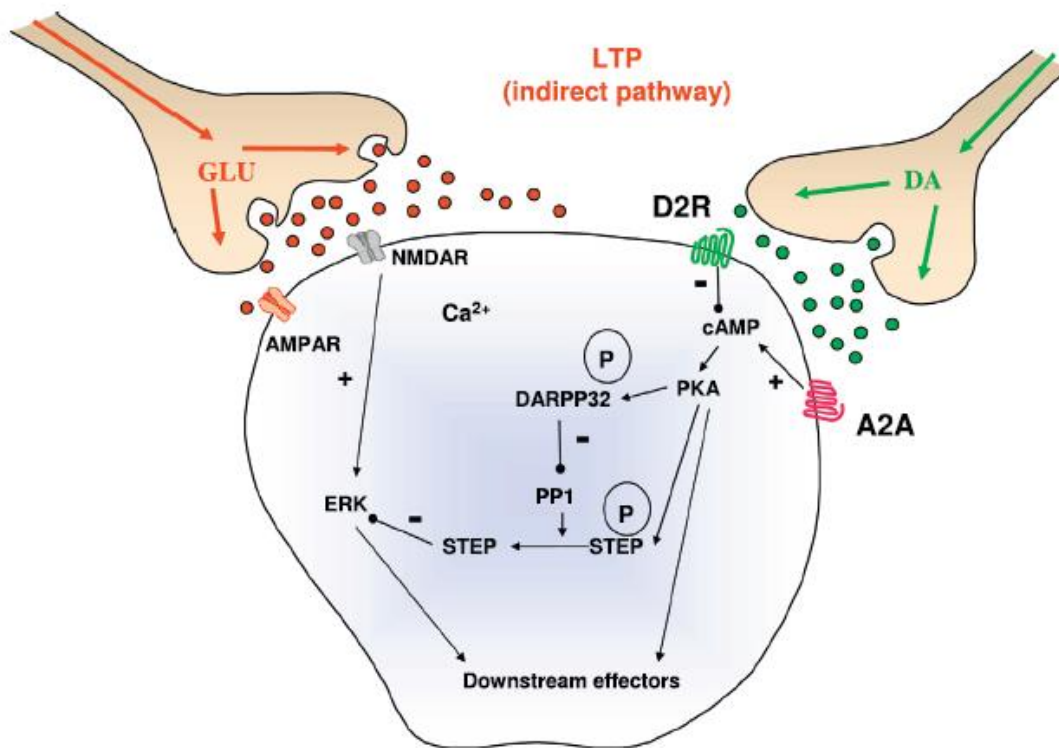


Figura 25. Mecanismo involucrado en la LTP de la vía indirecta. Aquí se muestra como A_{2A} incrementa los niveles de AMPc mismo que activa PKA la cual activara DARPP32 bloqueando PP1 y activando efectores río abajo. (Tomado de Cerovic, 2013).

Para finalizar de manera controversial, el SCH también provocó LTP durante el protocolo de plasticidad, esto podría ser producto de las interacciones en las afinidades del antagonista y al incremento de la concentración de ADO de origen endógeno ya que al haberse aplicado HFS se incrementó la disponibilidad de ADO intracelular mediante el aumento del gasto energético de ATP, al mismo tiempo se liberaron conjuntamente vesículas de glutamato y moléculas de ATP o a través de la liberación de ATP mediante células gliales, en estos últimos dos casos el ATP puede ser degradado mediante ectonucleasas y así incrementar su concentración extracelular compitiendo contra el antagonista, y así activando la misma vía que en los agonistas.

10. CONCLUSIONES

- La ADO por sí sola no genera un efecto modulador extenso, debido a la presencia de transportadores no concentrativos, mismos que se encargan de la homeostasis.
- Los efectos de la ADO y del agonista selectivo generaron una modulación positiva, probablemente mediante la inactivación de PLC, la cual abre los canales dependientes de voltaje tipo L.
- La modulación del antagonista probablemente se generó a través del incremento de calcio, gracias a la relación entre A_{2A} y el receptor NMDA.
- La plasticidad generada en todos los tratamientos fue consistente con LTP, probablemente esto se debe a la activación de PKA a través del incremento de AMPc generado por A_{2A} (por lo menos en ADO y CGS), Además al activarse A_{2A} este no permite la liberación total de cannabinoides, y por ello se inhibe la inhibición de la liberación de glutamato. Impidiéndose la LTD propia del estriado.
- Todos los fármacos modularon positivamente a través de mecanismos presinápticos.
- La única plasticidad propia de un mecanismo presináptico fue la del SCH 58261.

11. BIBLIOGRAFÍA

- ABEL, T., NGUYEN, P. V., BARAD, M., DEUEL, T. A., KANDEL, E. R., AND BOURTCHOULADZE, R. 1997 Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell* 88, 615–626.
- ALLGAIER C, PULLMANN F, SCHOBERT A, VON KUGELGEN I, HERTTING G. 1994 P2 purinoceptors modulating noradrenaline release from sympathetic neurons in culture. *Eur. J.Pharmacol*; 252: R7-8.
- AGNATI LF, FERRÉ S, LLUIS C, FRANCO R, FUXE K. 2003 Molecular mechanisms and therapeutical implications of intramembrane receptor/receptor interactions among heptahelical receptors with examples from the striatopallidal GABA neurons. *Pharmacol Rev*; 55:509–50.
- AGNATI LF, FRANZEN O, FERRE´ S, LEO G, FRANCO R, FUXE K. 2003 Possible role of intramembrane receptor–receptor interactions in memory and learning via formation of long-lived heteromeric complexes: focus on motor learning in the basal ganglia. *J Neural Transm Suppl*; 65: 1–28.
- AKHONDZADEH S, SHASAVAND E, JAMILIAN H, SHABESTARI O, KAMALIPOUR A. 2000 Dipyridamole in the treatment of schizophrenia: adenosine-dopamine receptor interactions. *J Clin Pharm Ther*; 25:131–7.
- ALBIN RL, YOUNG AB, PENNEY JB. 1989 The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci*; 12:366-375.
- DUPUIS J.P., BIOULAC D.H., BAUFRETON J., 2014 Long-term depression at distinct glutamatergic synapses in the basal ganglia *Rev. Neurosci*; aop.
- BARGAS, J.; AYALA, G.; HERNÁNDEZ, E.; GALARRAGA, E. 1998 Ca²⁺-channels involved in neostriatal glutamatergic transmission. *Brain Research Bulletin*, Vol. 45, No. 5, pp. 521–524.
- BLISS, T. V., COLLINGRIDGE, G. L. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31–39.
- BLUM D., GALAS M.C. PINTOR A., BROUILLET E., LEDENT C., MULLER C.E., BANTUBUNGI K., GALLUZZO M., GALL D., CUVELIER L., ROLLAND A.S., POPOLI P., SCHIFFMANN 2003 S.N.A Dual Role of Adenosine A_{2A} Receptors in 3-Nitropropionic Acid-

Induced Striatal Lesions: Implications for the Neuroprotective Potential of A_{2A} Antagonists, *The Journal of Neuroscience*, 23(12):5361–5369 • 5361.

- BOLAM J.P., HANLEY J.J., BOOTH P.A.C., BEVAN M. D. 2000 Synaptic organisation of the basal ganglia *J. Anat.* 196, pp. 527-542 .
- BRAMBILLA, R., COTTINI, L., FUMAGALLI, M., CERUTI, S., AND ABBRACCHIO, M.P. 2003 Blockade of A_{2A} adenosine receptors prevents basic fibroblast growth factor-induced reactive astrogliosis in rat striatal primary astrocytes. *Glia* 43, 190–194.
- BROWN SJ, JAMES S, REDDINGTON M, RICHARDSON PJ. 1990 Both A₁ and A_{2A} purine receptors regulate striatal acetylcholine release. *J. Neurochem*; 55:31–38.
- CALABRESI P, MAJ R, PISANI A, MERCURI NB, BERNARDI G 1992b Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J Neurosci* 12:4224–4233.
- CALABRESI, P., CENTONZE, D., PISANI, A., BERNARDI, G., 1997. Endogenous adenosine mediates the presynaptic inhibition induced by aglycemia at corticostriatal synapses. *J. Neurosci.* 17, 4509-4516.
- CALVIN WH, SYPERT GW 1976 Fast and slow pyramidal tract neurons: an intracellular analysis of their contrasting repetitive firing properties in the cat. *J Neurophysiol* 39:420-434.
- CEROVIC M., D'ISA R., TONINI R., BRAMBILLA R. 2013 Molecular Mechanisms of dopamine-mediated behavioral plasticity in the striatum. *Neurobiology of Learning and Memory* 105:63–80
- CHARLES, R. GERFEN D. SURMEIER J. 2011 Modulation of Striatal Projection Systems by Dopamine. *Annu Rev Neurosci*; 34: 441-466.
- CICCHETTI, F., PRENSA, L., WU, Y PARENT, A. 2000 Chemical anatomy of striatal interneurons in normal individuals and in patients with Huntington's disease. *BrainRes.* 34, 80–101
- CIRUELA, F., CASADO, V., RODRIGUES, R. J., LUJÁN, R., BURGUENO, J., CANALS, M., BORYCZ, J., REBOLA, N., GOLDBERG, S. R., MALLOL, J., CORTÉS, A., CANELA, E. I., LÓPEZ-GIMÉNEZ, J. F., MILLIGAN, G., LLUIS, C., CUNHA, R. A., FERRÉ, S., & FRANCO, R. 2006. Presynaptic control of striatal glutamatergic

neurotransmission by adenosine A₁- A_{2A} receptor heteromers. *J Neurosci* 26, 2080–2087.

- DEBANNE, D., GUÉRINEAU, N.C., GÄHWILER, B.H., THOMPSON S.M., 1996 Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affects subsequent release *Journal of Physiology*, 491.1, pp. 163-176.
- DOWDALL MJ, BOYNE AF, WHITTAKER VP. 1974 Adenosine triphosphate: a constituent of cholinergic synaptic vesicles. *Biochem J*; 140: 1-12.
- DUNWIDDIE, T.V. 1985 The physiological role of adenosine in the central nervous system. *Int. Rev. Neurobiol.* 27, 63–139.
- DUNWIDDIE TV, DIAO L. 2000 Regulation of extracellular adenosine in rat hippocampal slices is temperature dependent: role of adenosine transporters. *Neuroscience*; 95: 81-8.
- ELLENDER T. J. HARWOOD, J., KOSILLO P., CAPOGNA M. AND BOLAM 2013 Heterogeneous properties of central lateral and parafascicular thalamic synapses in the striatum; *Journal Pharmacology.* 1;591 (Pt 1):257-72
- FERRÉ S., CIRUELA F., CANALS M., MARCELLINO D., BURGUENO J, CASADO V., HILLION J., TORVINEN M, FANELLI F., BENEDETTI P., GOLDBERG S.R., BOUVIER M., FUXE K., AGNATIF L.F., LLUIS C., FRANCO R., WOODS A. 2004 Adenosine A_{2A} -dopamine D₂ receptor–receptor heteromers targets for neuro-psychiatric disorders *Parkinsonism and Related Disorders* 265–271.
- FERRÉ S, FUXE K, VON EULER G, JOHANSSON B, FREDHOLM BB. 1992 Adenosine-dopamine interactions in the brain. *Neuroscience*; 51:501–12.
- FERRÉ S., 1997 Adenosine–dopamine interactions in the ventral striatum. Implications for the treatment of schizophrenia., *J. Psychopharmacology*, 133:107–20.
- FERRÉ S, CIRUELA F, WOODS AS, CANALS M, BURGUENO J, MARCELLINO D, KARCZ-KUBICHA M, HOPE BT, MORALES M, POPOLI P, GOLDBERG SR, FUXE K, LLUIS C, FRANCO R, AGNATI LF. 2003 Glutamate mGlu5-adenosine A_{2A}–dopamine D₂ receptor interactions in the striatum. Implications for drug therapy in neuro-psychiatric disorders and drug abuse. *CurrMed Chem Central Nervous System Agents*;3:1–26.

- FERRÉ, S., AGNATI, L.F., CIRUELA, F., LLUIS, C., WOODS, A.S., FUXE, K., AND FRANCO, R. 2007 Neurotransmitter receptor heteromers and their integrative role in „local modules“: the striatal spine module. *Brain Res. Rev.* 55, 55–67.
- FERRÉ, S., CIRUELA, F., WOODS, A.S., LLUIS, C., AND FRANCO, R. 2007 Functional relevance of neurotransmitter receptor heteromers in the central nervous system. *Trends Neurosci.* 30, 440–446.
- FLAJOLET M., WANG Z., FUTTER M., FUTTER M., SHEN W., NUANGCHAMNONG N., BENDOR J., WALLACH I., NAIRN A.C., SURMEIER J.D. GREENGARD P., 2008 FGF acts as a co-transmitter through adenosine A_{2A} receptor to regulate synaptic plasticity 11: 12 *Nature Neuroscience*
- FREISSMUTH M, SELZER E, SCHÜTZ W. 1991 Interactions of purified bovine brain A₁-adenosine receptors with G-proteins. Reciprocal modulation of agonist and antagonist binding. *Biochem J*; 275: 651-6.
- GALINDO, F., FLORES A., 2006 De la energética a la neurotransmisión: el adenosin trifosfato y sus receptores. *Rev. De Neurol.* 43 (11): 667-677.
- GERFEN, C.R., ENGBER, T.M., MAHAN, L. C., SUSEL, Z., CHASE, T.N., MONSMA, F.J.JR., AND SIBLEY, D.R., 1990 D1 and D2 dopamine receptor regulated gene expression of striato nigral and striato pallidal neurons. *Science* 250, 1429–1432.
- GEFFEN LB, LIVETT BG. 1971 Synaptic vesicles in sympathetic neurons. *Physiol Rev*; 51: 98-157.
- GRAVELAND, G.A., DiFIGLIA, M. 1985. The frequency and distribution of medium sized neurons with indented nuclei in the primate and rodent neostriatum. *Brain Res.* 327, 307–311.
- GULYANI S. , EARLEY C.J., CAMANDOLA S., MAUDSLEY S., FERRÉ S., MUGHAL M.R., MARTIN B., CHENG A., GLEICHMANN M., JONES B.C., ALLEN R.P., MATTSON M.P., 2009 Diminished iron concentrations increase adenosine A_{2A} receptor levels in mouse striatum and cultured human neuroblastoma cells.
- HALLDNER L., LOZZA G., LINDSTRÖMA K., FREDHOLMA B.B., 2000 Lack of tolerance to motor stimulant effects of a selective adenosine A_{2A} receptor antagonist. *European Journal of Pharmacology* 406. 345–354.

- HETTINGER BD, LEE A, LINDEN J, ROSIN DL. 2001 Ultrastructural localization of adenosine A_{2A} receptors suggests multiple cellular sites for modulation of GABAergic neurons in rat striatum. *J Comp Neurol*; 431:331–46.
- JACOBSON, K.A. GAO, Z.G. 2006 Adenosine receptors as therapeutic targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 247–261.
- KATZ, B., MILEDI, R., 1968 The role of calcium in neuromuscular facilitation. *J. Physiol.*, 195, pp 481-492.
- KAWAGUCHI, Y., WILSON, C. J., AUGOOD, S. J. & EMSON, P. C. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* 18: 527-535.
- LATINI, S., BORDONI, F., CORRADETTI, R., PEPEU, G., PEDATA, F., 1999. Effect of A_{2A} adenosine receptor stimulation and antagonism on synaptic depression induced by in vitro ischaemia in rat hippocampal slices. *Br. J. Pharmacol.* 128, 1035-1044.
- LOVINGER D.M., 2010 Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum.
- LYNCH, M. A. 2004 Long-term potentiation and memory. *Physiol. Rev.* 84, 87–136.
- MALENKA, R. C., NICOLL, R. A., 1999 Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285, 1870–1874.
- MALENKA, R. C., BEAR, M. F. 2004 LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44, 5–21.
- MARTIRE A., CALAMANDREI G., FELICI F., SCATTONI M.L., LASTORIA G., DOMENICI M.R., TEBANO M.T., POPOLI P. 2007 Opposite effects of the A_{2A} receptor agonist CGS21680 in the striatum of Huntington's disease *versus* wild-type mice *Neuroscience Letters* 417 78–83
- MISHINA M., KIMURA Y., NAGANAWA M., ISHII K, ODA K., SAKATA M., TOYOHARA J., KOBAYASHI S., KATAYAMA Y., ISHIWATA K. 2012 Differential Effects of Age on Human Striatal Adenosine A₁ and A_{2A} Receptors *SYNAPSE* 66:832–839.
- ORRÚ M., ZANOVELI J.M., QUIROZ C., NGUYEN H.P., GUITAR X., FERRÉ S. 2011 Functional changes in postsynaptic adenosine A_{2A} receptors during early stages of a rat

model of Huntington disease a CNS Receptor-Receptor Interactions Unit
Experimental Neurology 232 76–80.

- PETERSON J.D., GOLBERG J.A., SURMEIER D.J. 2012 Adenosine A_{2A} receptor antagonists attenuate striatal adaptations following dopamine depletion *Neurobiology of Disease* 45 409-416.
- PINTOR A., DOMENICI M.R., FRANK C., TEBANO M.T., PEZZOLA A., SCARCHILLI L., QUARTA D., REGGIO R., MALCHIODI-ALBEDI F., FALCHI M., MASSOTTI M. Blockade of Striatal Adenosine A_{2A} Receptor Reduces, through a Presynaptic Mechanism, Quinolinic Acid-Induced Excitotoxicity: Possible Relevance to Neuroprotective Interventions in Neurodegenerative Diseases of the Striatum.
- POPOLI P, PEZZOLA A, TORVINEN M, REGGIO R, PINTOR A, SCARCHILLI L, FUXE K, FERRE' S. 2001 The selective mGlu(5) receptor agonist CHPG inhibits quinpirole-induced turning in 6-hydroxydopamine-lesioned rats and modulates the binding characteristics of dopamine D(2) receptors in the rat striatum: interactions with adenosine A(2a) receptors. *Neuropsychopharmacology*; 25:505–13.
- PURVES, D., AUGUSTINE, G. J., FITZPATRICK, D., HALL, W. C., LA MANTIA, A., MCNAMARA, J. O. & WILLIAMS, S. M. 2004. *Neuroscience*. 3rd edition. U.S.A.: Sinauer Associates.
- RANDALL, D., W. BURGGREN Y K. FRENCH, 2004. Eckert, *Fisiología Animal, Mecanismos y adaptaciones*. Mc Graw Hill, 4^o Edición.
- RIBEIRO, J.A., SEBASTIAO, A.M., DE MENDOCA, A. 2003 Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. *Prog. Neurobiol.* 68, 377–392.
- SHEPHERD, G.M. 2004. *The Synaptic Organization of the Brain*. New York: Oxford University Press. 5th Edition.
- SCHIFFMANN S.N., FISONEB, G., MORESCOC R., CUNHAD R.A., FERRÉE S. 2007 Adenosine A_{2A} receptors and basal ganglia physiology *Prog Neurobiol.* 83(5): 277–292.
- SCHIFFMANN SN, JACOBS O, VANDERHAEGHEN JJ. 1991 Striatal restricted adenosine A₂ receptor (RDC8) is expressed by enkephalin but not by substance P neurons: an in situ hybridization histochemistry study. *J Neurochem*; 57:1062–7.

- SCHIFFMANN SN, VANDERHAEGHEN JJ. 1993 Adenosine A₂ receptors regulate the gene expression of striatopallidal and striatonigral neurons. *J. Neurosci*; 13 (3):1080–1087.
- SEBASTIAO, A.M., RIBEIRO, J.A., 1992. Evidence for the presence of excitatory A_{2A} adenosine receptors in the rat hippocampus. *Neurosci. Lett.* 138, 41-44.
- SEBASTIAO, A.M. AND RIBEIRO, J.A. 2000 Fine tuning neuromodulation by adenosine. *Trends Pharmacol. Sci.* 21, 341–346. 64.
- SHIGETOMI E, KATO F. 2004 Action potential-independent release of glutamate by Ca²⁺ entry through presynaptic P_{2X} receptors elicits postsynaptic firing in the brainstem autonomic network. *J Neurosci*; 24: 3125-35.
- SHINDOU T., ARBUTHNOTT G.W., WICKENS J.R., 2008 Actions of Adenosine A_{2A} Receptors on Synaptic Connections of Spiny Projection Neurons in the Neostriatal Inhibitory Network *J Neurophysiol* 99: 1884–1889.
- SONG WJ., TKATCH T, SURMEIER DJ., 2000 Adenosine Receptor expression and modulation of Ca (2+) channels in rat striatal cholinergic neurons. *J Neurophysiol* 83(1):322-32.
- SVENNINGSSON, P., NOMIKOS, G.G., FREDHOLM, B.B. 1995 Biphasic changes in locomotor behavior and in expression of mRNA for NGF-1A and NGF-1B in rat striatum following acute caffeine administration. *J. Neurosci.* 15, 7612–7624.
- SVENNINGSSON, P., FOURREAU, L., BLOCH, B., FREDHOLM, B.B., GONON, F., AND LE MOINE, C. 1999 Opposite tonic modulation of dopamine and adenosine on c-fos mRNA expression in striatopallidal neurons. *Neuroscience* 89, 827– 837.
- TEBANO M.T., POPOLI P., 2002 Short communication SCH 58261 differentially influences quinolinic acid-induced effects in striatal and in hippocampal slices. *European Journal of Pharmacology* 450 253–257.
- TEBANO, M.T., PINTOR, A., FRANK, C., DOMENICI, M.R., MARTIRE, A., PEPPONI, R., POTENZA, R.L., GRIECO, R., POPOLI, P., 2004 Adenosine A_{2A} receptor blockade differentially influences excitotoxic mechanisms at pre- and postsynaptic sites in the rat striatum. *J. Neurosci. Res.* 77, 100–107.

- TEBANO, M., T. MARTIRE, A., CHIUDI, V., FERRANTE, A., POPOLI, P., 2010 Role of Adenosine A_{2A} Receptors in Modulation Synaptic Functions and Bran Levels of BDNF: a Possible Key Mechanism in the Pathophysiology of Huntington's Disease.
- TEPPER, J.M., KOÓS, T., WILSON, C.J., 2004 GABAergic microcircuits in the neostriatum. . *Trends Neurosci.* 27 (11), 662-669.
- XIE, K., Control of striatal signaling by G protein regulators 2011 *Frontier in Neuroanatomy*.
- ZOLI M, AGNATI LF, HEDLUND PB, LI XM, FERRE S, FUXE K. 1993 Receptor-receptor interactions as an integrative mechanism in nerve cells. *Mol Neurobiol*; 7:293–334.